

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Medicina Física y de Rehabilitación. Hidrología
Médica



TESIS DOCTORAL

**Influencia de la actividad física sobre el metabolismo
muscular y su valoración por técnica de 31 p-rmn**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

M^a Ángeles Atín Arratibel

Director

Luis Pablo Rodríguez Rodríguez

Madrid, 2019

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE
MADRID
FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA FÍSICA Y DE
REHABILITACIÓN. HIDROLOGÍA MÉDICA



TESIS DOCTORAL

**INFLUENCIA DE LA ACTIVIDAD
FÍSICA SOBRE EL METABOLISMO
MUSCULAR Y SU VALORACIÓN POR
TÉCNICA DE ^{31}P -RMN**

PRESENTADA POR: M^a ANGELES ATÍN ARRATIBEL
DIRECTOR: Prof. LUIS PABLO RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ

MADRID 2005

A mis padres , Miren y Vicente, a quien todo debo

A Juan Antonio, mi constante apoyo

A mis hijos, Ion y Arantxa

AGRADECIMIENTOS:

Al Profesor Luís Pablo Rodríguez Rodríguez, por brindarme la oportunidad de realizar esta tesis doctoral, por su apoyo, orientación y confianza para llevar a buen término este trabajo.

Al Profesor Julio Ponce Vázquez, por aportarme su experiencia y sus conocimientos. Su colaboración y esfuerzo resultaron imprescindibles.

Al Profesor Antonio Álvarez Badillo, sus juicios, reflexiones y su siempre enriquecedora labor de corrección, me han sido inestimables.

A las Profesoras Raquel Valero Alcalde, Susana Muñoz Lasa, a Fernando Gómez Muñiz y al resto de mis compañeros del Departamento de Medicina Física y de Rehabilitación por su amistad y apoyo brindado en todo momento.

Al Doctor Manuel Giménez, al Profesor J.M. Polu, y a todos los compañeros de la unidad 14 del INSERMM que me dieron la oportunidad de desarrollar este trabajo en mi estancia en Nancy.

A Patricia Martín Casas por su ánimo constante durante la elaboración de este trabajo.

A Maria Luz Marina por su paciencia y su dedicación en el día a día.

A todos aquellos que colaboraron desinteresadamente y se prestaron a participar en la realización de los protocolos de este estudio.

A Ricardo García Mata y Santiago Cano Alsua, analistas del Departamento de Apoyo e Investigación, por su inestimable ayuda en el estudio estadístico de los datos.

A todas aquellas personas que en algún momento han colaborado en este proyecto.

A todos ellos mi más sincero agradecimiento.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

τ	Constante de tiempo
ΔG_{ATP}	Energía libre de Gibbs
τ_{PCr}	“ τ ” constante de resíntesis de PCr
[ADP]	Concentración de ADP
[AMP]	Concentración de AMP
[ATP]	Concentración de ATP
$[\text{Ca}^{2+}]$	Concentración de Ca^{2+}
$[\text{H}^+]$	Concentración de hidrogeniones
$[\text{K}^+]$	Concentración de ión potasio
$[\text{L}^-]$	Concentración de ión lactato
$[\text{Mg}^{2+}]$	Concentración del ión magnesio
[PCr]	Concentración de PCr
[Pi]	Concentración de Pi
$^1\text{H-RMN}$	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
$^{31}\text{P-RMN}$	Resonancia Magnética Nuclear de Fósforo 31
acetil-CoA	Acetil coenzima A
ADP	Adenosina difosfato
AMP	Adenosina monofosfato
ATP	Adenosina trifosfato
BMI	Body mass index
Ca^{2+}	Ión calcio
cAMP	Cíclico AMP
CK	Creatinkinasa
CK_c	Creatinquinasa del citosol
CK_{em}	Creatinquinasa ectomitocondrial
CO_2	Dióxido de carbono
Cr	Creatina
CTE	Cadena de transporte de electrones
CV_mO_2	Contenido venoso muscular de oxígeno
C_vO_2	Contenido de oxígeno en sangre venosa central
$\text{dif O}_2(\text{a-v})$	diferencia arterio-venosa de oxígeno
DRESS	Depth-Resolved Surface-Coil Spectroscopy

F-6-P	Fructosa-6-fosfato
FADH ₂	Flavin-adenin-dinucleótido reducido
FC	Frecuencia cardíaca
FID	Free Induction Decay
FIO ₂	Fracción inspiratoria de oxígeno
G	Gauss
G-6-P	Glucosa –6-fosfato
GP	Glucógeno-fosforilasa
GTP	Trifosfato de guanosina
H ⁺	Ión hidrógeno
H ₂ O	Agua
IMC	Índice de Masa Corporal
IMP	Inosina monofosfato
ISIS	Image Selected In vivo Spectroscopy
IT	Intracellular Threshold
K ⁺	Ión potasio
L	Lactato sanguíneo arterial
L ⁻	Ión lactato
LBM	Masa magra corporal
LDH	Lactato deshidrogenasa
MCV	Máxima contracción voluntaria
Mg ²⁺ .	Ión magnesio
MRI	Imagen de resonancia magnética
MRSI	Imagen espectroscópica en resonancia magnética
Na ⁺	Ión sodio
NAD	nicotin-adenin-dinucleótido
NADH	nicotin-adenin-dinucleótido reducido
NH ₃	Amonio
NH ₄ ⁺	Amonio
NO	Oxido nítrico
NRPB	National Radiological Protection Board
O ₂	Oxígeno molecular
³¹ P	Isótopo fósforo-31
PAM	Presión arterial media

PCO ₂	Presión parcial de dióxido de carbono
PCr	Fosfocreatina
PCrt _{1/2}	Tiempo medio de PCr
PDE	Fosfodiésteres
PDH	Piruvato deshidrogenasa
PFK	Fosfofructoquinasa
pHi	pH intracelular
Pi	Fósforo inorgánico
PME	Fosfomonoésteres
PO ₂	Presión parcial de oxígeno
ppm	Partes por millón
PRESS	Point resolved spectroscopy
Q	Gasto cardíaco
Q _M	Flujo sanguíneo muscular
Q _p	Flujo sanguíneo pulmonar
RMN	Resonancia magnética nuclear
RPT	Resistencias periféricas totales
SPACE	Spatial and Chemical Shift Encoded Excitation
SPARS	Spatially Resolved Spectroscopy
STEAM	Stimulated echo acquisition mode
T°	temperatura absoluta
T	Tesla
t _{1/2}	Tiempo medio
Torr	Torricelli
U _L	Umbral de lactato
V	Velocidad oxidativa
VDI	Volumen de interés
V _m	Velocidad oxidativa máxima
V _{max}	Velocidad oxidativa máxima
VO ₂	Consumo de oxígeno
VO _{2ex}	“exceso” de VO ₂
VO _{2ms}	Consumo de oxígeno intramuscular
VO _{2max}	Consumo de oxígeno máximo
VS	Volumen sistólico

ÍNDICE

1. INTRODUCCION	6
2. BIOENERGÉTICA DE LA CONTRACCIÓN MUSCULAR	10
2.1. NUCLEÓTIDOS DE ADENINA	10
2.2. PROVISIÓN DE ATP EN EL MÚSCULO	12
2.3. MECANISMO ANAERÓBICO PARA LA PRODUCCIÓN DE ATP	13
2.3.1. Sistema energético del fosfágeno: La fosfocreatina	13
2.3.2. El sistema energético del glucógeno y el ácido láctico: La glicólisis anaeróbica	14
2.4. MECANISMO AERÓBICO PARA LA PRODUCCIÓN DE ATP	16
3. REGULACIÓN DE LOS SISTEMAS ENERGÉTICOS	19
3.1. LA REACCIÓN DE LA CREATINQUINASA COMO MECANISMO REGULADOR DE LA PROVISIÓN DE ENERGÍA	19
3.2. CONTROL DE LA GLICÓLISIS ANAERÓBICA	22
3.2.1. Aporte de ATP y soporte de otras necesidades metabólicas	22
3.2.2. Enzimas glicolíticos	24
3.3. CONTROL DE LA FOSFORILACIÓN OXIDATIVA	25
3.3.1. Control cinético por [ADP]	27
3.3.2. Control termodinámico	28
3.3.3. Activación enzima mitocondrial latente	29
3.3.4. Disponibilidad de oxígeno	30
4. RESPUESTA METABOLICA CARDIOVASCULAR AL EJERCICIO	32
4.1. RESPUESTA METABOLICA DEL ORGANISMO AL EJERCICIO	32
4.1.1. Consumo de oxígeno	32
4.1.2. Consumo máximo de oxígeno: capacidad del sistema cardiovascular	34
4.1.3. Control del consumo de oxígeno y cinética de utilización	36
4.2. DINAMICA CARDIOVASCULAR DURANTE EL EJERCICIO	40
4.2.1. Aporte de oxígeno y nutrientes al músculo durante el ejercicio	40
4.2.2. Respuestas cardiovasculares al ejercicio	41
4.2.3. Regulación y control de la respuesta cardiovascular	42

4.2.4. Flujo sanguíneo muscular durante el ejercicio	44
4.2.5. Limitaciones en el transporte y utilización en las cinéticas de VO_{2ms}	45
5. ESPECTROSCOPIA DEL FOSFORO-31 EN RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR	49
5.1. BASE FISICAS DE RMN	49
5.2. LA ESPECTROSCOPIA ^{31}P -RMN PARA EL ESTUDIO DEL MUSCULO ESQUELETICO	52
5.3. ^{31}P -RMN ESPECTRO DEL MÚSCULO ESQUELETICO	52
5.4. PROCESAMIENTO DE LOS DATOS	56
5.5. EL APARATO (TOMÓGRAFO) DE RESONANCIA MAGNETICA	57
5.6. LIMITES DEL APARATO. LA TECNICA	58
5.7. LOCALIZACION ESPACIAL	59
5.7.1. Bobinas de superficie	59
5.7.2. Microbobinas implantadas	61
5.7.3. Cinéticas de reacciones químicas in vivo por ^{31}P magnetization transfer	62
5.8. ASPECTOS DE SEGURIDAD	62
6. CAMBIOS METABOLICOS MUSCULARES: ESTUDIOS CON ^{31}P-RMN	64
6.1. OBSERVACIONES EN EL MUSCULO EN REPOSO	64
6.2. OBSERVACIONES DURANTE EL EJERCICIO	65
6.3. OBSERVACIONES DURANTE LA RECUPERACION TRAS EL EJERCICIO	68
6.3.1. La recuperación de PCr.	69
6.3.2. La recuperación de ADP.	70
6.3.3. La recuperación del Pi.	70
6.3.4. La recuperación del pHi.	71
6.4. FACTORES QUE AFECTAN A LA INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS	71
6.4.1. Tipo y naturaleza del ejercicio	71
6.4.2. Heterogeneidad del tipo de fibras musculares	73
6.4.3. Normalización del trabajo	74
6.4.4. El entrenamiento y el desacondicionamiento físico	75
6.4.5. Edad y sexo	77
6.4.6. Nutrición e hidratación	78
6.4.7. Fatiga muscular	78

6.4.8. Disponibilidad del oxígeno	79
6.5. UTILIDAD DE ³¹ P-RMN EN LAS ALTERACIONES MUSCULARES	79
6.5.1. Miopatías primarias	80
6.5.2. Miopatías secundarias	81
6.5.3. Procesos con limitada oxigenación tisular	82
7. HIPOTESIS Y OBJETIVOS	83
8. MATERIAL Y METODOS	86
8.1. SELECCIÓN DE LA MUESTRA	87
8.1.1. Criterios de inclusión	90
8.1.2. Criterios de exclusión	91
8.1.3. Grupos de estudio	92
8.2. MATERIALES	93
8.2.1. Espectrómetro de ³¹ P-RMN	93
8.2.2. Ergómetro	93
8.2.3. Colocación de los equipos en la sala de examen	95
8.3. METODOLOGIA- PROTOCOLO DE EJERCICIO	96
8.3.1. Protocolo del ejercicio muscular	97
8.3.2. Cronología del protocolo	99
8.3.3. Elección del músculo	99
8.3.4. Incidencias durante el protocolo	99
8.4. ANALISIS DE LOS DATOS	102
8.4.1. Cálculo de las variables metabólicas	102
8.4.2. Cálculo de la potencia del ejercicio	103
8.4.3. Cálculo del trabajo realizado	104
8.4.4. Identificación del umbral de pHi y de Pi/PCr	105
8.4.5. Cálculo de los tiempos de estabilización al comienzo del ejercicio constante (ON)	105
8.4.6. Cálculo de los tiempos medios de recuperación del ejercicio (OFF)	106
8.4.7. Velocidad inicial de recuperación de PCr	107
8.5. METODO ESTADISTICO	108
9. RESULTADOS	110

9.1. TABLAS	111
9.2. GRAFICOS	132
10. DISCUSION	173
10.1. DISCUSION DEL PROTOCOLO	174
10.2. DURACION DE LOS EJERCICIOS	177
10.3. EJERCICIO INCREMENTAL	179
10.3.1. Cinética del ejercicio incremental	179
10.3.2. Índices de capacidad oxidativa muscular	181
10.3.3. Influencia de la actividad física sobre la capacidad oxidativa muscular	185
10.4. EJERCICIO CONSTANTE	191
10.4.1. Cinética de la PCr al comienzo del ejercicio	193
10.4.2. Influencia de la actividad física en el ejercicio constante	196
10.5. RECUPERACION	198
10.5.1. Cinética de la recuperación	198
10.5.2. Influencia del ambiente metabólico final del ejercicio sobre la cinética de recuperación de la PCr	200
10.5.3. Velocidad inicial de la recuperación de la PCr	205
10.5.4. Actividad física y recuperación	207
10.6. CONTROL DEL METABOLISMO OXIDATIVO	211
11. CONCLUSIONES	213
12. BIBLIOGRAFIA	216
APENDICES	236

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCION

La espectroscopia de resonancia magnética nuclear de fósforo 31 (^{31}P -RMN) se presenta como una técnica no invasiva, que se ofrece como una ventana única al metabolismo energético en el músculo esquelético.

Durante muchos años, las restricciones técnicas limitaron el tamaño de los imanes de alto campo requeridos para espectroscopia por RMN. Los estudios musculares se limitaron en esos años a biopsias de tejidos o preparaciones de músculos aislados¹⁻⁷.

Los primeros estudios de ^{31}P -RMN en músculo intacto fueron llevados a cabo por Chance y col⁸, Cresshull y col⁹, Ross y col¹⁰, Eleff y col¹¹, entre otros y permitieron estudiar la bioenergética del músculo en condiciones de reposo o durante varios tipos de ejercicio dinámico. Y a pesar de esas limitaciones la espectroscopia por RMN demostró su capacidad para mostrar los cambios en el metabolismo celular.

La ^{31}P -RMN ofrece la posibilidad de medir el ATP, la fosfocreatina (PCr) y el fósforo inorgánico (Pi) que tienen un papel clave en la energética muscular, y el pH intracelular (pHi), a través de series de espectros obtenidos durante el reposo, el ejercicio y en la recuperación, en distintas condiciones.

A través del análisis espectral se puede estudiar la contribución de las distintas vías metabólicas, oxidativas y glicolíticas durante un ejercicio; aunque pueda existir cierta dificultad en la cuantificación del trabajo realizado. Los espectros obtenidos durante la recuperación, con ciertas restricciones, se consideran reflejo de la capacidad oxidativa muscular. Los cambios en estos parámetros pueden ser utilizados para la evaluación del metabolismo energético alterado¹².

Gran número de publicaciones de la literatura médica y científica¹³⁻¹⁹ atestiguan la indudable capacidad de la técnica para ofrecer información bioquímica de los tejidos in vivo, pero sólo

un pequeño número de centros utilizan la ^{31}P -RMN rutinariamente para la investigación clínica del músculo esquelético.

Esta técnica ha brindado un gran apoyo en la investigación sobre la bioenergética intracelular y sobre el control del metabolismo oxidativo¹⁸; ha permitido investigar los parámetros metabólicos relacionados con los mecanismos de fatiga muscular^{20,21}; ha estudiado la utilización de sustratos²²⁻²⁵, o el efecto del entrenamiento muscular sobre los parámetros metabólicos y la repercusión sobre la energética muscular de diferentes tipos de entrenamiento²⁶⁻²⁹.

En la práctica clínica ha resultado relevante su aplicación en la caracterización fisiopatológica de perfiles metabólicos alterados en enfermedades musculares primarias (miopatías metabólicas y mitocondriales)³⁰⁻³² y secundarias, en el diagnóstico y en la evolución de estos procesos, y en la evaluación de la eficacia de nuevos tratamientos^{30,31}.

Son muchos los procesos abordados desde el campo de la Medicina Física y Rehabilitación en los que se aprecia una marcada limitación funcional no sólo asociada a la patología de base del paciente, sino de aquella asociada a una limitación de la movilidad física y el estilo de vida sedentario. Por tanto, es práctica habitual en Rehabilitación la prescripción de programas de ejercicio físico que aumenten la tolerancia al esfuerzo de los pacientes y mejoren la resistencia al trabajo físico.

El ejercicio es una actividad integrada; los componentes esenciales de una prescripción sistemática de ejercicio deben individualizarse, considerando de forma cuidadosa el estado de salud de cada individuo incluyendo, el estado físico previo, la medicación, factores de riesgo cardiovasculares y ortopédicos, preferencias individuales y objetivos específicos del programa propuesto³².

No sólo debe atenderse a la mejoría del estado cardio-respiratorio; será necesario mantener o mejorar la fuerza y la resistencia muscular que capacitará a los individuos para efectuar tareas con un menor stress fisiológico y ayudará a mantener la independencia funcional en sus actividades de la vida diaria²⁷.

Aunque se comprenden pobremente los mecanismos fisiológicos que subyacen a las consecuencias beneficiosas del entrenamiento³³, se sugiere que una proporción importante sus efectos deriva de cambios en factores periféricos más que centrales, incluyendo adaptaciones celulares y enzimáticas que incrementan la capacidad oxidativa muscular. Por tanto, uno de los objetivos del entrenamiento físico y su aplicación en Medicina Física y de Rehabilitación, debería ser la mejoría del estado bioenergético del músculo esquelético durante el ejercicio submáximo.

Distintos estudios han utilizado la ³¹P-RMN para monitorizar las adaptaciones metabólicas del músculo esquelético al entrenamiento aeróbico³⁴⁻³⁷; sin embargo, mucho menos conocida, es la repercusión del desacondicionamiento y reacondicionamiento físico³⁸⁻⁴¹ en los parámetros de ³¹P-RMN aunque deberían de manifestarse en direcciones opuestas.

Pocos estudios han valorado el papel de la actividad física sobre el músculo con técnica de ³¹P-RMN. Consideramos que puede mostrarse sensible para valorar el estado de acondicionamiento muscular asociado, y con este objetivo hemos desarrollado este proyecto.

Con este fin, hemos realizado una revisión de la bioenergética muscular, de la regulación de los sistemas energéticos y su relación con la respuesta metabólica y cardiovascular al ejercicio, así como de las posibilidades de su estudio mediante la ³¹P-RMN. Esto nos ha llevado a definir la hipótesis y plantear los objetivos de nuestro trabajo, para posteriormente exponer y discutir los resultados que nos han permitido enunciar las conclusiones.

2. BIOENERGÉTICA DE LA CONTRACCIÓN MUSCULAR

2.1. NUCLEÓTIDOS DE ADENINA

El movimiento es una característica esencial de los organismos vivos y ello es posible gracias a la existencia de una serie de mecanismos contráctiles capaces de transformar la energía química en trabajo mecánico. El mecanismo contráctil del músculo esquelético de los vertebrados es el mejor conocido, liberándose del trifosfato de adenosina (ATP) la energía necesaria para la producción de fuerza y acortamiento de la fibra muscular. El ATP es la única forma de energía química que puede ser convertida en energía mecánica (*moneda energética*) que es utilizada por las células vivas. La energía liberada es almacenada en forma de ATP que presenta dos enlaces fosfato de alta energía que almacenan cerca de 11.000 calorías, cada uno, por mol de ATP; de aquí los términos *fosfato de alta energía* o *fosfágeno*, comúnmente utilizados para denominar a este compuesto⁴².

La energía necesaria para la actividad física deriva de la hidrólisis del ATP a difosfato de adenosina (ADP) y fosfato inorgánico (Pi) según la siguiente reacción:



Durante la actividad contráctil esta reacción está catalizada principalmente por la miosin ATPasa y por las ATPasas involucradas en la homeostasis del calcio. La hidrólisis del ATP en el citosol es una reacción lejana al equilibrio, y ocurre sólo cuando está emparejada a otras reacciones o procesos tales como la generación de fuerza⁴².

La energía libre disponible, o energía libre de Gibbs, dirige estas reacciones emparejadas desde la hidrólisis de ATP⁴².

$$\Delta G_{\text{ATP}} = \Delta G_{\text{ATP}}^0 + RT \ln ([\text{ADP}] \cdot [\text{Pi}] / [\text{ATP}])$$

donde las concentraciones metabólicas son las concentraciones totales en solución (la suma de todas las especies iónicas) y ΔG_{ATP}^0 es la energía libre estándar ($= RT \ln K_{\text{eq}}$), R es la constante del gas ($1.99 \text{ cal} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{deg}^{-1}$), T la temperatura absoluta, y $\ln K_{\text{eq}}$ es el logaritmo de la constante de equilibrio determinada por condiciones de laboratorio. La constante de

equilibrio (K_{eq}) representa la relación en condiciones de equilibrio entre los productos y los reactantes. ΔG^0_{ATP} en las condiciones estándar de laboratorio ($T = 25^\circ C$, $pH = 7$, $pMg = 3$ y $[K^+] = 100 \text{ mM}$) es de -32 KJ/mol . A $pH = 6.5$ y $pMg = 3$, ΔG^0_{ATP} disminuye (se hace menos negativa) alrededor de 2 KJ/mol .

Los nucleótidos de adenina, junto con otros metabolitos directamente emparejados por reacciones de equilibrio, que regulan el metabolismo del músculo esquelético durante la actividad física^{42,43}.

Un hecho destacable en el músculo esquelético es su capacidad para hacer frente a súbitos y exagerados incrementos del flujo metabólico; así, la actividad de la ATPasa puede aumentar hasta 200 veces tras una contracción tetánica iniciada en reposo⁴². No obstante, este elevado intercambio en ATP sucede con cambios insignificantes en la concentración de ATP, lo que exige la existencia de un preciso y sensible sistema de control metabólico cuyo objetivo es mantener relativamente constante el nivel de ATP. Esto hace necesario que se contemple la regulación de la síntesis de ATP junto con la regulación de su hidrólisis.

El principal determinante del intercambio de ATP en el músculo es la activación del aparato contráctil por el calcio (Fig. 2.1).

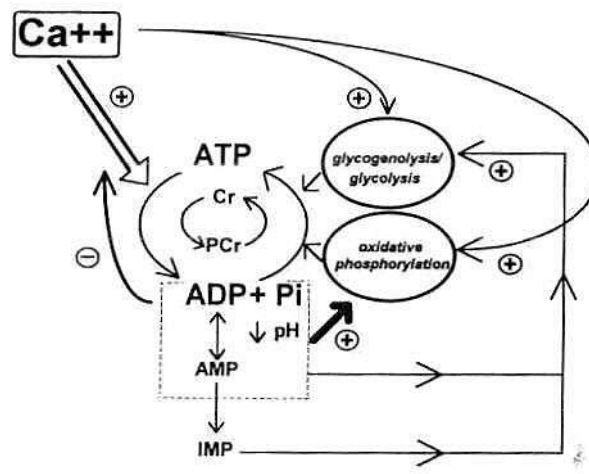


Figura 2.1 Papel del Ca^{2+} y de los metabolitos fosfato en la regulación de la fuerza y la producción de ATP en el músculo esquelético. Modificado de Meyer RA⁴²

Las reservas musculares de ATP, incluso en el deportista bien entrenado, son suficientes únicamente para mantener la actividad muscular durante escasos segundos (3 o 4), por lo que se requiere un continuo aporte de ATP para mantener el metabolismo del músculo y continuar desarrollando actividad motriz. Aunque se ha descrito una disminución significativa en la concentración de ATP con la actividad muscular^{44,45} parece ser que el cambio que experimenta dicha concentración es muy reducido^{46,47} o estadísticamente inexistente^{48,49}, lo que indica que el ATP se va regenerando casi completamente durante la actividad física.

2.2 . PROVISIÓN DE ATP EN EL MÚSCULO

Los músculos esqueléticos están compuestos por un número elevado de fibras musculares, de las que existen varios tipos que difieren fisiológica y metabólicamente entre sí. Además, los distintos músculos poseen proporciones variables de dichos tipos de fibras y esta proporción varía de un individuo a otro. En general, y teniendo en cuenta sus propiedades fisiológicas (velocidad de contracción) y metabólicas (capacidad oxidativa) se distinguen cuatro tipos de fibras: I, IIA, IIB y IIC⁵⁰⁻⁵².

Las fibras de tipo I son de contracción lenta y metabolismo aeróbico, presentando abundantes mitocondrias por lo que tienen alta capacidad oxidativa y baja capacidad glicolítica. Las fibras de tipo II son de contracción rápida. Las IIA tienen altas capacidades oxidativas y glicolíticas (fibras de contracción rápida oxidativas), las IIB tienen baja capacidad oxidativa y alta capacidad glicolítica (fibras de contracción rápida glicolíticas), y las IIC presentan capacidades intermedias.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, en la resíntesis de ATP en el músculo, mediante la refosforilación del ADP a partir de los combustibles endógenos y exógenos, van a contribuir varios sistemas energéticos a través de dos mecanismos: uno anaeróbico (fibras tipo IIB) y otro aeróbico u oxidativo asociado al transporte de electrones en la mitocondria (fibras tipo I). La diferente demanda y utilización de estos sistemas energéticos dependerá de la intensidad y duración del trabajo muscular y de las características del tipo de fibras de los músculos seleccionados para dicho trabajo.

2.3. MECANISMO ANAERÓBICO PARA LA PRODUCCIÓN DE ATP

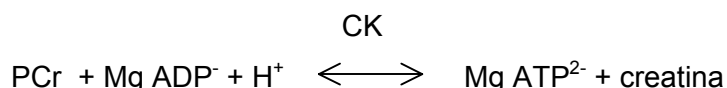
Está integrado por dos sistemas energéticos: 1) El sistema energético del fosfágeno o vía anaeróbica aláctica, integrado por el ATP y la fosfocreatina. 2) El sistema energético del glucógeno y el ácido láctico o vía anaeróbica láctica, integrado por la glicólisis anaeróbica.

Este mecanismo anaeróbico es particularmente importante en tres condiciones: para la actividad mecánica en el tipo de fibra muscular más anaeróbica (IIB), en todos los músculos al inicio del ejercicio y cuando la demanda de ATP excede la velocidad máxima de producción aeróbica.

2.3.1. Sistema energético del fosfágeno: La fosfocreatina

Los fosfágenos son compuestos con un grupo fosfato de alta energía. Además del ATP, el fosfágeno de los músculos de los vertebrados es la fosfocreatina (PCr), que representa la más inmediata reserva energética del músculo esquelético para la provisión de ATP al inicio de la contracción muscular.

Mediante la reacción de la creatinquinasa (CK) la PCr transfiere un grupo fosfato de alta energía al ADP para la refosforilación del ATP:



Las reservas de PCr del músculo esquelético exceden en cinco o seis veces a las de ATP; además, la capacidad catalítica de la CK es varias veces superior a la velocidad máxima de hidrólisis de ATP en el músculo activo⁵³ y más alta que la síntesis de ATP⁵⁴. Es decir, la rápida degradación de la PCr al comienzo del ejercicio submáximo y durante el ejercicio de alta intensidad ocurre porque la reacción tiene un potencial más elevado de transferencia del grupo fosfato que el ATP. La energía libre de la hidrólisis de la PCr (-43 KJ mol⁻¹) es mayor que la del ATP (- 31 KJ mol⁻¹), lo que facilita la transferencia de energía libre desde la PCr al ADP⁵⁴.

Debido a su significativa contribución a la producción de energía la concentración de PCr ([PCr]) puede verse reducida a menos del 40% de los niveles de reposo durante los 10 segundos del inicio de un ejercicio intenso⁵⁵.

El sistema del fosfágeno (ATP - PCr) representa la vía más rápida e intensa de obtención de energía, pero sus limitadas reservas musculares sólo son suficientes para proveer fuerza muscular máxima durante un periodo muy corto de tiempo, inferior a los 15 segundos.

2.3.2. El sistema energético del glucógeno y el ácido láctico: La glicólisis anaeróbica

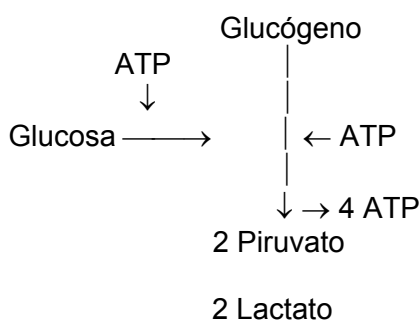
Las fuentes de energía no oxidativas en el músculo son la glucosa y el glucógeno.

En el músculo esquelético la formación de glucosa es muy baja (la glucosa extracelular representa menos de un 5% del total de carbohidratos), de manera que la mayor parte de la energía potencial disponible de las fuentes no oxidativas proviene del glucógeno (glucogenolisis)⁴³.

El metabolismo del glucógeno y de la glucosa tiene lugar en el citosol (glicólisis anaeróbica) y en las mitocondrias (fase oxidativa).

Mediante la glicólisis anaeróbica se movilizan las reservas de glucógeno almacenado en la célula muscular y se utiliza la glucosa exógena cuando éstas se agotan, formándose piruvato y ATP. De esta forma, el sistema permite a la célula obtener energía sin consumo alguno de oxígeno.

El tejido muscular contiene gran cantidad de enzimas glicolíticos que unen una serie de reacciones químicas diferentes que llevan a la formación de piruvato:



La acumulación intracelular de protones se ha involucrado con la fatiga muscular o incapacidad del músculo para mantener una potencia determinada. Aunque existen diversos mecanismos posibles para esta acción, la inhibición de enzimas clave (fosfofructoquinasa) y la interferencia con las proteínas contráctiles del músculo se muestran como dos de las consecuencias significativas de la excesiva producción de H^+ en el músculo activo^{56,57}. En estas circunstancias, para que continúe la actividad muscular es imprescindible el aporte de oxígeno para resintetizar el lactato a glucógeno (neoglucogénesis a través del ciclo de Cori) y proveer energía por vía oxidativa.

En la figura 2.2 se muestra el esquema de la glicólisis anaeróbica con los enzimas que intervienen. Por cada molécula de glucógeno se producen tres moléculas de ATP, mientras que si se utiliza la glucosa extracelular se producen 2 moléculas de ATP.

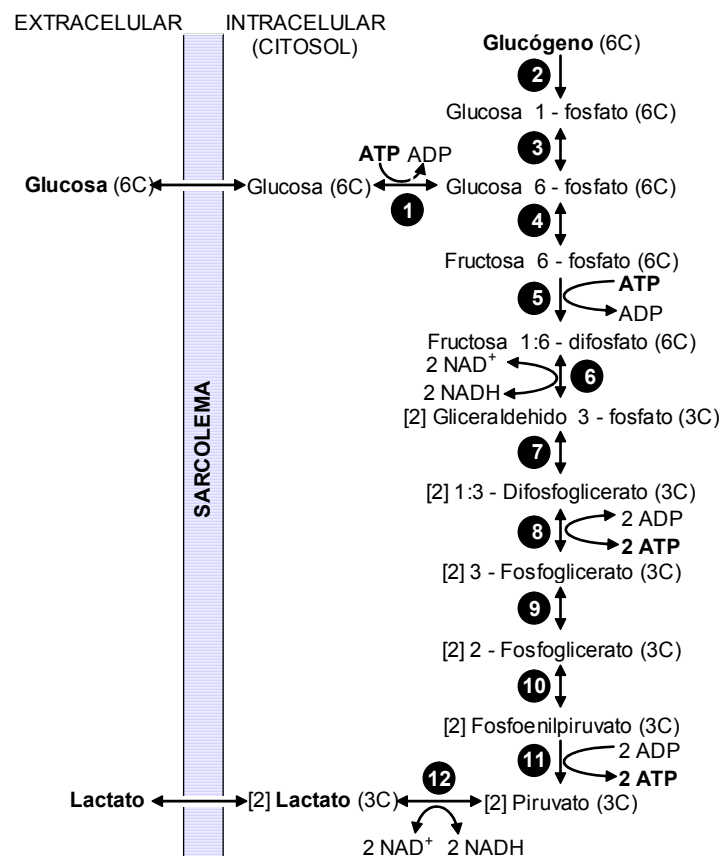


Figura 2.2.- Esquema de la glicólisis anaeróbica. Los números dentro de círculos negros representan los enzimas catalizadores: 1, hexoquinasa; 2, glucógeno fosforilasa; 3, fosfoglucomutasa; 4, fosfoglucoisomerasa; 5, fosfofructoquinasa; 6, aldolasa; 7, gliceraldeído-3-fosfato deshidrogenasa; 8, 3-fosfogliceratoquinasa; 9, fosfogliceromutasa; 10, enolasa; 11, piruvato quinasa; 12, lactato deshidrogenasa. (Modificado de Randle PJ, Tubbs PK. Carbohydrate and fatty acid metabolism. Modificado de: Steiner DF and Freinkel N .1979⁵⁸

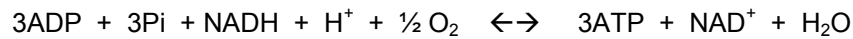
La glucogenolisis tiene una mayor capacidad que la PCr para aportar energía durante más tiempo, aunque con menor rapidez e intensidad, continuando la refosforilación de ADP durante el ejercicio máximo después de que las reservas de PCr se hayan agotado prácticamente; es decir, constituye una vía de provisión de ATP menos rápida pero de mayor duración que la del sistema del fosfágeno, pudiendo brindar de 30 a 40 segundos de actividad muscular máxima. Sin embargo, durante el ejercicio de intensidad elevada el sistema se autorregula. La glucogenolisis se activa también al comienzo de la contracción muscular^{59,60}. Los incrementos de AMP y Pi activan la glucógeno fosforilasa, mientras que los aumentos de ATP la inhiben.

En condiciones de anaerobiosis, cuando la glucogenolisis es la vía principal en la generación de energía, resulta evidente el papel de la vía de la PCr como sistema de reservorio para preservar la integridad de la homeostasis energética. Cuantitativamente, la energía disponible del metabolismo no oxidativo es significativamente mayor que la disponible de otras fuentes de energía inmediatas. Por otra parte, las actividades musculares intensas de más de 30 segundos de duración no pueden mantenerse sin el concurso del metabolismo oxidativo⁶¹.

2.4. MECANISMO AERÓBICO PARA LA PRODUCCIÓN DE ATP

En el mecanismo aeróbico la transducción de energía depende de la presencia de oxígeno. En las mitocondrias tiene lugar la fosforilación oxidativa de los carburantes. A diferencia del proceso glicolítico, que utiliza como fuentes de energía potencial a los carbohidratos exclusivamente, el mecanismo oxidativo incluyen, además, los ácidos grasos libres y los aminoácidos. La fuente principal de azúcares proviene del glucógeno muscular, que puede ser complementado por: la glucosa suplida por la sangre. Dentro del músculo, las mitocondrias ligan la degradación de los principios inmediatos, el consumo de oxígeno y el mantenimiento de ATP y PCr.

El acetil-CoA formado ingresa en el ciclo del ácido cítrico (ciclo de los ácidos tricarboxílicos o ciclo de Krebs) descomponiéndose en CO₂ y átomos de hidrógeno que ingresan en el sistema de transporte de electrones (cadena respiratoria); al final del sistema y en presencia de oxígeno se forma agua y ATP. La reacción puede resumirse en:



Tal y como se muestra en la figura 2.3, en cada vuelta del ciclo se producen por cada molécula de acetil-CoA tres moléculas de nicotin-adenin-dinucleótido reducido (NADH), una molécula de flavin-adenin-dinucleótido reducido (FADH₂) y una molécula de trifosfato de guanosina (GTP), con regeneración del intermediario oxalacetato

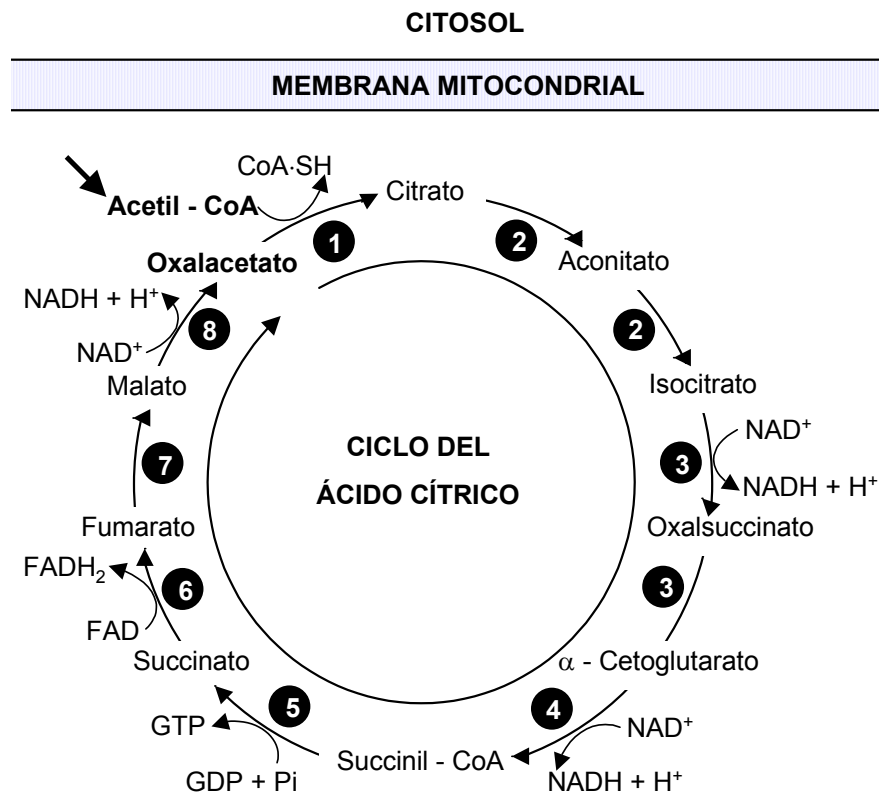


Figura 2.3.- Representación esquemática del ciclo del ácido cítrico. Los enzimas del ciclo están representados por números: 1, citrato sintasa; 2, aconitasa; 3, isocitrato deshidrogenasa; 4, α -cetoglutarato deshidrogenasa; 5, succinato tioquinasa; 6, succinato deshidrogenasa; 7, fumarasa; 8, malato deshidrogenasa. Modificado de Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. 1988⁶²

La respiración mitocondrial (fosforilación oxidativa) es la principal fuente de grupos fosfato de alta energía tales como el ATP y la PCr. Aunque el sistema no puede producir ATP a una velocidad equivalente a la de la PCr y la glucogenolisis, si es capaz de sostener un ejercicio de baja intensidad durante varias horas (hasta que duren los nutrientes). Sin embargo,

debido a su mayor complejidad, el tiempo entre el comienzo del ejercicio y el punto en el que este sistema está operando a su completo potencial es de alrededor de 45 segundos⁶³.

Por tanto, la vía oxidativa es más lenta que la anaeróbica, de mayor duración y más económica, liberándose cantidades considerables de energía. Así como el rendimiento de la glucogenolisis anaeróbica es de 3 ATP, el de la oxidación del glucógeno es de 36 ATP. En cuanto a la oxidación de los ácidos grasos se obtiene un total de ATP de $8.5n - 7$, siendo n el número de átomos de carbono.

El ADP que se genera de la reacción de la CK es un factor clave para regular y lograr a largo plazo las necesidades oxidativas de ATP, aunque no está claro que sea la única señal reguladora de retroalimentación para la fosforilación oxidativa⁶⁴.

Por tanto, la reacción de la CK además de una acción equilibrante, desplazando a la PCr para satisfacer a corto plazo las demandas de ATP, tiene una acción integradora elevando el nivel de la señal para el aporte oxidativo de ATP a largo plazo. Esta unión de la dinámica de la PCr a la función mitocondrial es el hecho principal de la energética muscular⁶⁵.

Una vez que cesa la actividad muscular la glucogenolisis se detiene y la recuperación de las reservas energéticas inmediatas se realiza exclusivamente por vía aeróbica. La reacción de la CK funcionará reponiendo las reservas de PCr cuando la carga de energía de la célula aumente y exista suficiente energía libre disponible para refosforilar Cr:



El ATP disponible para esta reacción proviene exclusivamente de fuentes oxidativas. Factores conocidos que influyen en la velocidad de la resíntesis durante la recuperación del ejercicio son las concentraciones celulares de ATP, ADP y Cr. Además, un bajo pH muscular, una baja tensión de oxígeno y/o una reducción en el flujo sanguíneo muscular pueden alterar la resíntesis de PCr. La isquemia muscular es a menudo utilizada en la investigación metabólica para “detener” la resíntesis de PCr con el fin de realizar mediciones bioquímicas y fisiológicas⁵².

3. REGULACIÓN DE LOS SISTEMAS ENERGÉTICOS

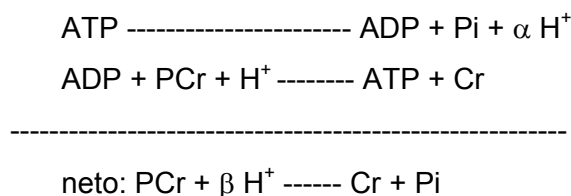
3.1. LA REACCIÓN DE LA CK COMO MECANISMO REGULADOR DE LA PROVISIÓN DE ENERGÍA

La reacción de equilibrio de la CK cataliza una reacción que mantiene constantes los niveles de ATP frente a demandas variables. La rotura de la PCr ofrece un tampón al potencial de descenso de la [ATP] durante el ejercicio, de tal forma que el incremento de las demandas de ATP debidas a la contracción muscular produce un desplazamiento en la reacción con disminución de la [PCr] sin cambios en la [ATP] (y en la energía libre del ATP). Las concentraciones de PCr y de creatina reflejan la posición del equilibrio; éste viene definido por la constante de equilibrio (K_{eq}) y las concentraciones de otros reactantes y productos:

$$K_{eq} = [Cr] / [PCr] \cdot [ATP] / [ADP] \cdot 1 / [H^+] = 1.66 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1}$$

Por lo tanto, la relación celular de [PCr] / [Cr] a un pH conocido proporciona una buena medida de la relación [ATP] / [ADP]. La [PCr] es un indicador sensible del estado energético de la célula, debido a que los cambios en los flujos de ATP causan desplazamientos en el equilibrio de la CK que se reflejan en la [PCr]⁶⁵.

La hidrólisis de la PCr es la única reacción observable durante una contracción corta, o durante series de contracciones más prolongadas si se inhiben la generación oxidativa y glicolítica de ATP. Esto es debido a la alta actividad enzimática antes comentada, a la elevada constante de equilibrio y a la alta relación ATP / ADP en el músculo en reposo. La expresión de la reacción neta es:



La reacción consume protones, siendo su consecuencia una breve alcalinización del pH (0.1 pH unidades) que se observa al inicio de la contracción, y su correspondiente acidificación tras la contracción, que coincide con la resíntesis de la PCr^{66,67}. Este esquema sugiere un papel *estabilizador del pH*, de la reacción de la CK⁶¹.

La reacción de equilibrio de la CK ofrece, además, una vía para calcular la concentración citoplasmática libre, metabólicamente activa, del *ADP* del músculo esquelético⁶¹:

La reacción de la CK puede cumplir otras funciones en el músculo esquelético. Se considera al sistema como un intermediario eficiente en la transferencia de fosfatos de alta energía desde los lugares de su producción (mitocondria, citosol) a los lugares de consumo dentro de la célula muscular. Su localización tanto en el citosol como en la mitocondria, explica su papel particularmente importante como lanzadera de energía intracelular.

La hidrólisis de ATP por el aparato contráctil en el músculo se compensa rápidamente por la CK del citosol (CK_c) y las reservas de PCr. La Cr resultante es entonces refosforilada por la acción de la CK ectomitocondrial (CK_{em}) que accede al ATP mitocondrial⁶¹ (Fig. 3.1).

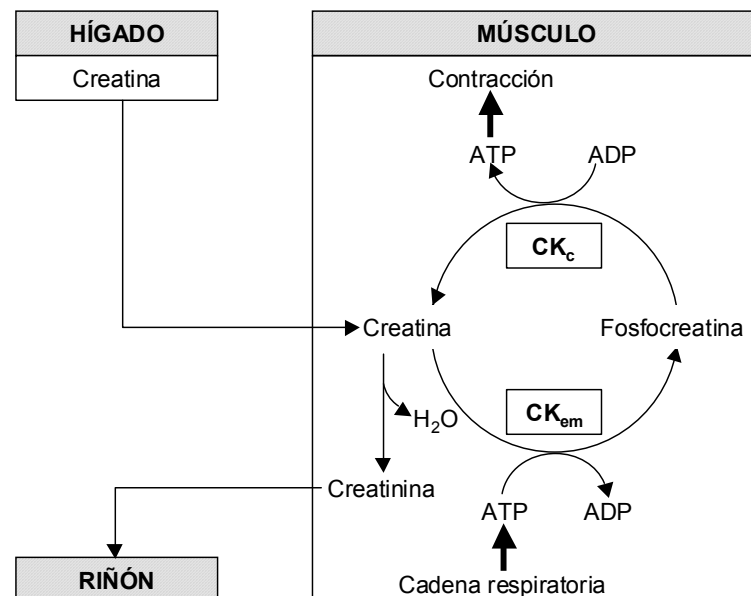
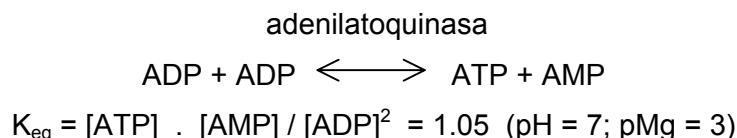


Figura 3.1.- Metabolismo de la creatina

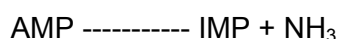
La refosforilización del ADP por la PCr permite que el ATP sea reutilizado para la contracción; ésto lleva a su vez a un incremento de la concentración de P_i ($[P_i]$), que es sustrato y activador del enzima glicolítico fosfofructoquinasa (PFK). Además se genera ADP, señal de activación para la fosforilación oxidativa⁶⁵.

El músculo contiene también altos niveles del enzima adenilatoquinasa (mioquinasa) que cataliza una reacción de equilibrio que liga la formación de monofosfato de adenosina (AMP) a la generación de ADP:



Cuando la [ADP] se eleva, la [AMP] también se eleva a niveles que activan dos vías metabólicas: glicólisis y consumo de glucosa⁶⁸. Existe una interrelación evidente entre el conjunto de los metabolitos fosforilados de la célula muscular. Asumiendo el equilibrio de las reacciones de la mioquinasa y de la CK y un pH constante, es posible calcular cambios en todos los metabolitos mencionados como funciones de una depleción neta de fosfatos de alta energía o de producción de Pi.

La depleción de ATP ocurrirá sólo cuando la PCr esté sustancialmente disminuida. El aumento de AMP estará limitado por la desaminación de AMP a monofosfato de inosina (IMP) y la defosforilación a adenosina. La desaminación predomina en el músculo esquelético, así que la disminución de ATP y del contenido total de nucleótidos se asocia con la acumulación de IMP y amonio (NH₃)⁴²:



Esta reacción se considera esencialmente irreversible in vivo. Aunque el enzima AMP desaminasa muestra un pH óptimo a 6.5 y es regulada alostéricamente por el Pi, AMP y ADP, se sugiere que la velocidad de la reacción está en parte limitada por la disponibilidad de AMP. El objetivo de esta reacción junto con la de la mioquinasa es preservar una relación alta ATP/ADP y, por tanto, de ΔG_{ATP} a costa de la depleción del contenido total de nucleótidos⁴²:

Durante el ejercicio la carga energética regula la velocidad de la resíntesis de ATP, y por tanto la capacidad para realizar un trabajo. Así, la disminución de la carga energética al comienzo de la contracción, por la disminución momentánea en ATP y el incremento en ADP y AMP, acelera la resíntesis de ATP tanto por vía anaeróbica como oxidativa, incrementando la velocidad de aporte de energía ajustándola a la demanda⁴³

La interrelación entre la carga energética de la célula y la velocidad de hidrólisis de ATP y de su resíntesis durante el ejercicio permite definir aquella situación en la que la velocidad de producción de ATP se iguala a la de su utilización, que es el estado-estable del ciclo de energía. Si la carga energética se eleva o cae desde el estado-estable, el ATP, el ADP y el AMP actúan como activadores o inhibidores alostéricos de las reacciones enzimáticas involucradas en la degradación y utilización de PCr, carbohidratos y grasas.

Es importante mencionar también que, en general, los cambios en el ATP son mínimos. Sin embargo, el Pi (de la hidrólisis neta de PCr), el ADP (proporcional a Cr / PCr) y la energía libre disponible de la hidrólisis (ΔG_{ATP}) cambian; de hecho, el cambio en ΔG_{ATP} es directamente proporcional al cambio en la PCr^{69,70}. Por tanto hay una estrecha relación lineal entre la depleción de fosfágenos y la ΔG_{ATP} . Asimismo, la ausencia de eliminación de ADP y AMP por la mioquinasa y la AMP desaminasa debería hacer caer la ΔG_{ATP} cuando ocurre una depleción de ATP⁴².

Por otra parte, el conjunto de metabolitos fosforilados forman una red, relacionada por reacciones de equilibrio, cuyo estado viene definido por la energía libre citoplasmática de la hidrólisis de ATP, por el pH y por el contenido total de nucleótidos de adenina y de Cr. La hidrólisis neta de fosfágenos origina en primer lugar en una caída lineal en ΔG_{ATP} y posteriormente un depleción total de los nucleótidos de adenina. Los cambios en esta red de metabolitos, junto con los cambios en el pH y en el Ca^{2+} pueden explicar muchos de los procesos de control que estabilizan el ATP en el músculo esquelético durante el ejercicio ⁴².

3.2. CONTROL DE LA GLICÓLISIS ANAERÓBICA: ASPECTOS INTEGRADORES

3.2.1. Aporte de ATP y soporte de otras necesidades metabólicas

Las demandas de ATP pueden cambiar casi instantáneamente (en milisegundos). Mientras que la activación mitocondrial (activación del consumo de oxígeno (VO_2)) que parece estar directamente relacionado con los cambios en estado citosólico de fosforilación, tarda más tiempo en lograr un estado-estable ($t_{1/2}$ entre 18-30 segundos en humanos⁷¹; en la glicólisis el $t_{1/2}$ de activación es muy corto, y está relacionado con la contracción muscular de manera

independiente al estado energético y además puede responder en milisegundos. Muchos estudios han demostrado acumulaciones significativas de lactato en los primeros 15 segundos de actividad en todos los tipos de fibras⁷².

Además de suplir de ATP en las condiciones de ejercicio anteriores, se admite que la glicolisis tiene un papel adicional en aquellas condiciones de trabajo sostenido moderado e intenso, a intensidades donde la capacidad mitocondrial debería ser adecuada para suplir las necesidades de ATP. Esta condición se sugiere al observar la actividad muscular tras deplecionar las reservas de glucógeno, o en individuos con enzimas glicolíticos inactivos. En todos los casos de inadecuada actividad glicolítica el individuo no puede sostener un nivel de actividad por encima del 50% de la capacidad aeróbica por dolor o incapacidad para sostener la actividad, aun cuando la capacidad mitocondrial es normal o incluso por encima de lo normal^{43,73}.

Además, esta vía puede interactuar con la mitocondria mediante distintos mecanismos. Cambiando el estado de fosforilación en el citosol, al producir ATP que modifica la actividad de la mitocondria; produciendo equivalentes reducidos (NADH, FADH₂) que pueden servir para estabilizar el estado redox mitocondrial; y produciendo piruvato que puede servir como sustrato o fuente para los intermediarios del ciclo del ácido cítrico⁷³.

Cuando la glicólisis cursa lentamente, el NADH transporta o “lanza” el hidrógeno y los electrones a la mitocondria y el piruvato, es también consumido por la mitocondria. Sin embargo, si hay insuficiente actividad mitocondrial para aceptar el flujo glicolítico, como puede ocurrir en las fibras tipo IIB o en las tipo I durante el ejercicio máximo o cuando las mitocondrias son defectuosas o están inactivas, entonces el NADH se oxida y el piruvato se reduce para formar lactato en el citoplasma por el enzima lactato deshidrogenada (LDH) citoplasmática:



La formación neta de lactato o piruvato depende entonces de la relativa actividad glicolítica y mitocondrial, y no de la presencia de oxígeno. Por tanto, en la contracción del músculo esquelético bajo condiciones aeróbicas completas, como ocurre durante el reposo, la glicólisis lleva a la producción de lactato. Así, a diferencia de la respiración mitocondrial, que

está estrechamente controlada y directamente relacionada con la demanda energética, la glicólisis y la glicogenólisis están menos estrechamente controladas. El flujo glicolítico en exceso a la demanda mitocondrial lleva a la producción de lactato simplemente porque la LDH tiene el más alto V_{\max} de los enzimas glicolíticos y debido a la K_{eq} ($3.6 \cdot 10^4 \text{ m.l}^{-1}$) y ΔG (-6.0 Kcal) de la conversión de piruvato a lactato favorece la formación del producto^{51,73}

El lactato es transportado también a la mitocondria junto al NADH, por una proteína transportadora específica de la membrana mitocondrial (*lanzadera intracelular de lactato*), y allí es oxidado a piruvato por la LDH mitocondrial. El conocimiento de que la mitocondria consume y oxida lactato ha cambiado completamente la comprensión de la interrelación entre el metabolismo glicolítico y el oxidativo. De acuerdo con este modelo, cuando la glicólisis es rápida y la concentración de lactato se eleva, entra en la mitocondria. Por tanto, un nivel constante de ácido láctico en sangre significa sólo que la producción y la eliminación de lactato son equivalentes⁵¹.

La ventaja principal de la lanzadera de lactato intracelular en el músculo es permitir una rápida glicólisis aeróbica (altas velocidades de consumo de oxígeno) y la formación de lactato simultáneamente. Esto es, la lanzadera de lactato intracelular soporta la glicólisis aeróbica.

3.2.2 Enzimas glicolíticos

Los enzimas de la vía glucolítica se han estudiado ampliamente y se ha estimado la contribución de cada paso al conjunto de la vía; pero no ha sido posible una detallada cuantificación para los cambios en el flujo durante el ejercicio. Se ha teorizado que la mayor parte de la vía opera en condiciones de equilibrio excepto para pasos bien definidos controlados alostéricamente:(Fig. 2.2) la glucógeno-fosforilasa (GP) y la PFK. La cinética de los demás pasos en la vía puede contribuir en conjunto a la producción de ATP, equivalentes reducidos, y piruvato y/o lactato.

La GP es un enzima generador de flujo y limitante de la velocidad de la glucogenólisis. Su actividad parece estar controlada por moduladores alostéricos (AMP, IMP, ADP, ATP, G-6-P) y por cambios en la disponibilidad de sustratos (Pi y glucógeno). Un tercer mecanismo está asociado a la interconversión entre una forma menos activa (GPb) a una forma más

activa (GP_a), mediado a través del cíclico AMP (cAMP) e inducido por la epinefrina, es sin embargo demasiado lento para explicar la rápida glicólisis durante el comienzo del ejercicio intenso. La interconversión puede ser activada también por el Ca^{2+} liberado desde el retículo sarcoplásmico, cuya concentración aumenta con la actividad muscular. Así la conversión mediada por el cAMP liga la epinefrina circulante con la glucogenolisis; mientras que la activación por el Ca^{2+} , empareja la glucogenolisis durante el ejercicio con la contracción⁷³

La PFK es el principal factor en la regulación de la glicólisis, pero aun existe la controversia sobre el control de la actividad de este enzima in vivo. Se han identificado distintos moduladores potenciales de su actividad como son el AMP, ADP, P_i , aumentos del pH, F-6-P, NH_4^+ , como estimuladores; pero factores como el ATP, PCr y el citrato enlentecen su actividad durante el reposo⁷³.

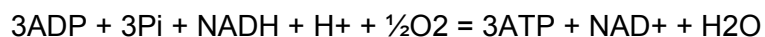
Aunque es un enzima mitocondrial y no glucolítico la piruvato deshidrogenasa (PDH) su actividad puede afectar la velocidad de producción de lactato. Compitiendo con la LDH por el piruvato, la PDH puede afectar indirectamente el NADH/NAD^+ , y, además, a la velocidad de la glicólisis⁷³.

Se puede concretar diciendo que la aceleración de la glicólisis durante el ejercicio intenso es consecuencia de la conversión de GP_b en GP_a, del incremento en la concentración de sustrato (P_i), de la activación alostérica por AMP de la GP_b y GP_a, y de la activación por un factor desconocido estrechamente asociado al proceso de contracción. La GP_b puede ser activa en algunas condiciones durante el ejercicio y los cambios en la concentración de AMP, IMP y G-6-P pueden ser importantes en el control alostérico. Los cambios en el pH tendrán un efecto modulador sobre la actividad de la GP. El incremento en el pH citosólico al comienzo del ejercicio del orden de 0.1 unidades tendrá un pequeño efecto estimulante sobre la glucogenolisis. Sin embargo, la disminución del pH citosólico durante la actividad muscular sostenida de hasta 1 unidad de pH puede ser un potente inhibidor de retroalimentación tanto de la GP como de la CPK⁷³

3.3. CONTROL DE LA FOSFORILACIÓN OXIDATIVA

La fosforilación oxidativa debe ser rigurosamente coordinada para lograr las demandas de ATP del citoplasma; este proceso constituye una cuestión central en el campo de la

bioenergética celular. Los parámetros más relevantes para el control del metabolismo oxidativo incluyen no sólo la liberación del ADP y Pi por la ATP-asa, sino también del oxígeno desde la circulación capilar y la liberación de sustrato para formar NADH, como indica la ecuación ya referida con anterioridad, donde el valor de 3 es aproximado^{74,75}:



La oxidación de combustibles en el ciclo tricarboxílico ofrece equivalentes reducidos (NADH, FADH: “donadores de electrones”) para la cadena de transporte de electrones(CTE). Esta cadena compuesta por cuatro coenzimas complejos, tiene como coenzima terminal el citocromo-c. El oxígeno actúa como un aceptor terminal de electrones con el citocromo-c en una reacción irreversible catalizada por la citocromo-oxidasa, que lleva a la formación de H₂O y permite el flujo continuado de la CTE.

La síntesis de ATP desde el ADP y Pi aunque no está involucrada directamente en este proceso, si está emparejada con éste; así que los cambios en las concentraciones de ATP/ADP. Pi ([ATP]/ [ADP]. [Pi]) pueden alterar considerablemente la velocidad de la transferencia de electrones⁷⁶. La energía liberada en la transferencia de electrones desde la CTE es usada para bombear iones de H⁺ desde el lado interno de la matriz de la membrana mitocondrial al externo, creando un gradiente electroquímico. Los iones H⁺ fluyen entonces en contra de este gradiente dentro de la matriz mitocondrial. La energía del flujo de H⁺ es usada para refosforilar ADP, formando ATP (Fig 2.1)

Se han propuesto varios modelos o mecanismos alternativos para describir el control de la respiración mitocondrial, es decir, de como se comunica la necesidad de la síntesis de ATP a la mitocondria, pero esto aún no han sido aclarados⁷⁷.

Entre los modelos de control propuestos se encuentran:

- Mecanismos de control de retroalimentación (feedback) . Control cinético a través del ADP, [PCr] y ΔG_{ATP} ^{70,74,78-80}.
- Los mecanismos de realimentación (feedforward) por los cuales la señal de la contracción estimula directamente la síntesis oxidativa de ATP, en los que ha sido

propuesto el Ca^{2+} intracelular como activador de las deshidrogenadas mitocondriales^{81,82}.

- Un tercer mecanismo estaría relacionado con las limitaciones en la disponibilidad del oxígeno⁷⁶

El compromiso de la PCr en el control respiratorio, bien directamente o como un cooperador, se apoya en las recientes demostraciones de la correlación entre la disminución progresiva en la [PCr] y el aumento en el consumo de oxígeno intramuscular ($\text{VO}_{2\text{ms}}$).

La velocidad de respiración del músculo esquelético depende de la concentración citoplasmática de ADP, bien de forma individual^{83,83} o en combinación con otros metabolitos citoplasmáticos tales como Pi y/o ATP^{69,70,83}. Esta aceptación se ha reforzado por numerosos estudios de espectroscopía del fósforo en resonancia magnética nuclear (^{31}P -RMN)⁸³⁻⁸⁹, que muestran que cambios en la velocidad respiratoria o en la intensidad de trabajo en el músculo esquelético (aunque no en el cardíaco⁸³ se acompañan con cambios en los metabolitos fosforilados.

3.3.1. Control cinético por [ADP]

La teoría fue primeramente desarrollada por Chance en estudios de mitocondrias aisladas y, posteriormente, aplicado a estudios musculares in vivo en animales y humanos^{1,74,90,91}. Según el modelo de Chance, la velocidad de la fosforilación oxidativa se ajusta al tipo de ecuación hiperbólica de Michaelis-Menten con la concentración de ADP para lograr las demandas de ATP. Definiendo una “función de transferencia” que relaciona la velocidad oxidativa a la [ADP]

$$V / V_m = 1 / 1 + (K_m / [\text{ADP}])$$

Donde V (velocidad) es análoga al VO_2 , V_m es la velocidad máxima de O_2 , [ADP] es la concentración de ADP, y K_m es la constante de Michaelis-Menten para el ADP (20×10^{-6} M).

La “función de transferencia” ha sido calculada en términos de parámetros de resonancia magnética nuclear y para los cálculos con [ATP] constante y $[\text{PCr}] + [\text{Cr}] = [\text{PCr}] + [\text{Pi}]$, podemos

escribir $[ADP]=K^*[Pi]/[PCr]$ y la velocidad de la ecuación de Michaelis-Menten puede ser simplificada como:

$$V / V_m = 1 / [1 + K_x / (Pi / PCr)]$$

donde K_x es una constante. Así, para músculo esquelético la variable reguladora ADP está reflejada por el cociente Pi/PCr , para un bajo V/V_m . Esta aproximación ha sido la base de un número de estudios, cuyo propósito fue examinar y extender a condiciones *in vivo* el significado predictivo del modelo propuesto^{80,90}.

3.3.2. Control termodinámico

La termodinámica de no equilibrio ofrece otra aproximación para describir el comportamiento de las reacciones enzimáticas.^{70,92,93}

Debido a la CK una interrelación hiperbólica entre la velocidad oxidativa y la $[ADP]$ implica aproximadamente una interrelación lineal con la $[PCr]$ y con ΔG_{ATP} . La linealidad con ΔG_{ATP} es la base de una aproximación de no-equilibrio termodinámico y también de una analogía eléctrica^{70,85} en la cual la pendiente contra ΔG_{ATP} ("conductancia") es la velocidad oxidativa.

El modelo ofrece una relación análoga a la ley de Ohm en un circuito eléctrico donde el flujo neto a través de una reacción o secuencia de reacciones (intensidad) es igual al producto de un coeficiente de conductancia (C) por la fuerza conductora o voltaje ($V_1 - V_2$): $I = (V_1 - V_2) \cdot (C)$ ⁷⁰. Transformado en modelo químico de metabolismo oxidativo en el músculo, describe la corriente como la ATPasa citosólica. El voltaje, como la diferencia entre la energía libre citoplasmática de la hidrólisis de ATP y la energía libre potencial disponible por la mitocondria y la PCr representa la carga almacenada en el capacitador⁷⁰.

El modelo predice que el nivel de PCr es proporcional a la ΔG_{ATP} en un amplio rango biológico y que el VO_2 y el nivel de PCr mantienen una relación lineal en estado-estable.

Sí la energía libre de la hidrólisis en el citosol es:

$$\Delta G_{ATP} = \Delta G_{ATP}^0 + RT \ln ([ADP] \cdot [Pi] / [ATP]);$$

asumiendo el equilibrio de la CK y con [ATP] constante y [PCr]+[Cr]=[PCr]+[Pi]; sustituyendo las ecuaciones se observa que:

$$\Delta G_{ATP} = \Delta G_{ATP}^0 - RT \ln (K_{ck}) - RT \ln \{ [PCr] / (Cr - [PCr]) \}$$

Los modelos termodinámicos^{70,94,95} de control respiratorio predicen que el potencial redox mitocondrial, que refleja el grado de reducción del citocromo-C⁹⁶, y el potencial de fosforilación ($[ATP] / [ADP] \cdot [Pi]$)^{94,96} determinan el flujo respiratorio; y que no son las concentraciones absolutas de sustratos, sino más bien los cocientes entre sustratos y productos, los factores determinantes de la respiración⁹⁵. Para un mismo VO_{2ms} , estos cocientes pueden variar considerablemente, dependiendo de cuales sea los sustratos están aportando acetil-CoA al ciclo del ácido cítrico⁹⁷.

Estas dos teorías son las más extensamente citadas. En parte, la continua controversia entre estos modelos propuestos puede ser atribuida al hecho de que ambos pueden explicar adecuadamente los cambios observados experimentalmente en los fosfatos de alta energía que ocurren en el músculo esquelético durante el ejercicio en estado-estable o la estimulación⁸⁷. Sin embargo, estos modelos respiratorios pueden ser examinados manipulando el pH muscular⁶⁹; la razón que subyace a este planteamiento es la diferente dependencia del pH de ambos reguladores propuestos: ADP y ΔG_{ATP} .

3.3.3. Activación enzima mitocondrial latente

Incrementos en la concentración de Ca^{2+} mitocondrial ($[Ca^{2+}]$) originan la conversión de PDH a su forma activa⁹⁸.

La PDH cataliza la reacción que decarboxila el piruvato a acetil-CoA (participando el NAD^+ y la CoA). Los grupos acetilo producidos pueden utilizarse por el ciclo del ácido cítrico o, alternativamente, pueden ser almacenados en forma de acetilcarnitina, probablemente cuando la resíntesis de acetil-CoA excede a su utilización por la citrato sintetasa. La regulación del enzima PDH determina la disponibilidad del sustrato para el ciclo del ácido cítrico y, subsecuentemente, la cadena de transporte de electrones (ETC). Este mecanismo ha sido propuesto para el mantenimiento de la cantidad de CoA esencial para el flujo del

ácido tricarboxílico. Esto descubre un importante papel para la carnitina, además de su función en la translocación mitocondrial del grupo acil de cadena larga⁷⁶.

La activación farmacológica de la PDH, aumenta la disponibilidad de la acetilcarnitina en el músculo esquelético y disminuye de forma apreciable la hidrólisis de PCr y la acumulación de lactato en el primer minuto de la contracción muscular^{99,100}. Estos datos sugieren que bajo un conjunto dado de condiciones específicas de ejercicio el aporte de más sustrato para la fosforilación oxidativa puede reducir la dependencia sobre las reservas de fosfatos de alta energía del músculo y mejorar la velocidad de adaptación de la fosforilación oxidativa⁷⁶.

Cambios en los niveles de Ca^{2+} citosólico y mitocondrial regulan también enzimas del ciclo como isocitrato deshidrogenasa y 2-oxoglutarato deshidrogenada; además, determinan la velocidad de aporte de equivalentes reducidos a la cadena de transporte de electrones y el nivel resultante de citocromo-c reducido, que influirá en la velocidad de respiración mitocondrial^{96,101-103}.

3.3.4. Disponibilidad de oxígeno

En tanto que está bien establecido que la limitación de oxígeno ejerce efectos reguladores sumamente importantes bajo condiciones de hipoxia e isquemia cuando las demandas basales de ATP llegan a estar comprometidas, es menos claro si los niveles intracelulares de oxígeno son siempre lo suficientemente bajos en condiciones de normoxia para limitar la máxima producción mitocondrial de ATP.

Wilson⁹⁶ subrayó la dependencia de la respiración mitocondrial a niveles fisiológicos de PO_2 y ha diseñado un modelo de control basado en una hipótesis de cinética de equilibrio en estado-estable.

La velocidad de la fosforilación oxidativa y del VO_2 mitocondrial depende de la concentración de oxígeno y de citocromo-c reducido, ambos sustratos para la reacción⁹³. A su vez, el citocromo-c reducido representa la reacción de equilibrio que depende del estado redox

mitocondrial, $[NAD_m^+]/[NADH_m]$, emparejada al potencial de fosforilación citosólico, $[ATP]/[ADP] \cdot [Pi]$. Con este planteamiento la velocidad de la fosforilación oxidativa va a depender de tres factores interrelacionados⁹³ del $[NAD_m^+]/[NADH_m]$ que depende de la disponibilidad de sustrato y del estado del metabolismo intermediario; del $[ATP]/[ADP] \cdot [Pi]$ citosólico determinado por la demanda celular de ATP; y, la concentración de oxígeno molecular

A niveles saturantes de oxígeno, la hidrólisis de ATP origina una disminución del $[ATP]/[ADP] \cdot [Pi]$ citosólico que a su vez activa la fosforilación oxidativa al nivel de la utilización de ATP e incluso cambios $[NAD^+]/[NADH]$ mitocondrial que pueden contribuir al aumento de la fosforilación oxidativa y en la regulación de otras vías. Cuando la tensión de oxígeno intramuscular disminuye con el incremento del trabajo, el conjunto de reacciones se comportarán como factores reguladores de la fosforilación oxidativa; la fosforilación oxidativa y el VO_2 se mantienen sólo por la disminución de $[ATP]/[ADP] \cdot [Pi]$ y/o $[NAD^+]/[NADH]$ ⁹³.

La PO_2 de la suspensión del medio a la cual la respiración mitocondrial máxima comienza a disminuir se sitúa entre 5 y 0.1 Torr dependiendo de si la relación de $[ATP] / [ADP] \cdot [Pi]$, es alta o baja. Estos valores de PO_2 representan condiciones donde los cambios compensatorios en el estado redox no son ya capaces de prevenir una caída en la máxima respiración mitocondrial; si tales cambios no ocurrieran, la respiración comenzaría a descender a niveles más altos de PO_2 (PO_2 de 20 Torr que se sitúa en 30 Torr con reducción del citocromo-c). Los autores también sugieren un gradiente en sus preparaciones experimentales de 0,4 Torr entre el medio extracelular y la mitocondria⁹⁶.

Así, cuando el trabajo aumenta de intensidad, aumenta también la utilización de ATP y con ella todos los cambios compensatorios enunciados para estimular la fosforilación oxidativa y equilibrar la demanda al aporte. Si la PO_2 intramuscular disminuye al mismo tiempo que aumenta el trabajo, hay una contribución adicional al desequilibrio entre el aporte y la utilización de ATP, lo que requerirá aún una mayor compensación para estimular la fosforilación oxidativa. La unión entre la disminución de PO_2 y el aumento en la producción de lactato, es el hecho de que los cambios que llevan a una disminución del $[ATP]/[ADP] \cdot [Pi]$ citosólico son a su vez potentes estímulos de la actividad glicolítica y además de la producción de lactato^{104,105}.

4. RESPUESTA METABOLICA CARDIOVASCULAR AL EJERCICIO

4.1. RESPUESTA METABOLICA DEL ORGANISMO AL EJERCICIO

4.1.1. Consumo de oxígeno

Tanto en reposo como durante el ejercicio, el aporte de oxígeno y sustratos a los tejidos está asegurado por la función del sistema cardiovascular. El ejercicio aumenta las demandas musculares de oxígeno de manera proporcional a la intensidad del ejercicio. El VO_2 en los tejidos está determinado por la velocidad a la que es transportado a los mismos, la capacidad de transporte de oxígeno por la sangre, y la cantidad de oxígeno extraído por los tejidos. Viene expresado por el principio de Fick como sigue:

$$\text{VO}_2 = Q \times \text{dif O}_2(\text{a-v}); \quad \text{VO}_2 = \text{VS} \times \text{FC} \times \text{dif O}_2(\text{a-v})$$

La respuesta metabólica del organismo puede estudiarse a través de la medición del VO_2 . Una respuesta en estado-estable puede usarse para representar el coste calórico, o el coste de oxígeno, con tal de que todo el ATP requerido para el ejercicio sea suplido por la respiración. Se considera que existe una condición de VO_2 en “estado-estable” cuando durante el ejercicio son constantes el VO_2 submáximo y la concentración de lactato⁵¹.

El VO_2 es también una medida adecuada del flujo metabólico cuando como consecuencia del ejercicio aparece lactato en sangre. El lactato representa simplemente el vehículo para transportar energía química potencial de un lugar a otro del organismo. En este caso, la acumulación, y no la producción de lactato, representa la producción anaeróbica de energía (1mM de ATP producido/mM de lactato acumulado). En términos de producción neta de energía, el componente anaeróbico de lactato acumulado es pequeño en relación al del metabolismo oxidativo⁵¹

4.1.1.1. Déficit y deuda de oxígeno.

Durante mucho tiempo se ha mantenido que el VO_2 al comienzo del ejercicio era inadecuado para lograr las demandas energéticas por lo que se producía un “déficit”, para el que el organismo utilizaba sus reservas energéticas (o créditos). Tras el ejercicio el organismo debía pagar sus “créditos” y el oxígeno extra consumido por encima del nivel de reposo durante la recuperación era referido como “deuda”. Esta deuda fue estimada como una medida del metabolismo anaeróbico durante el ejercicio. En todo caso, el retorno del VO_2 a los valores de reposo no se produce de forma inmediata sino más bien de forma curvilínea, bien compuesta por un componente exponencial tras el ejercicio medio, o por dos componentes exponenciales después de un ejercicio intenso⁵¹.

Durante muchos años se ha mantenido la teoría de la existencia de dos fases en la “deuda” de oxígeno. Una primera fase, rápida, no asociada temporalmente con cambios de lactato en sangre, denominada por eso como aláctica. Otra segunda llamada fase lenta, o fase láctica, que coincidía temporalmente con el declive en lactato sanguíneo y era debida a la reconversión de lactato en glucógeno. El interés del estudio de esta deuda se ha renovado estos últimos años, debido a que la aplicación de nuevas tecnologías como ^{31}P -RMN utilizado en este estudio, requieren en algunos casos condiciones de estado-estable o cercanas al estado-estable, para interpretar los datos.

Actualmente se considera que la causa del VO_2 post-ejercicio es el disturbio general que ocasiona el ejercicio sobre la homeostasis celular, a través de distintos mecanismos: un aumento de la temperatura tisular, un aumento de Ca^{2+} en la mitocondria tras el ejercicio, cambios en los niveles de metabolitos y hormonas (aumento de ácidos grasos, norepinefrina, catecolaminas, aumento de la permeabilidad de la membrana celular al Na^+ y al K^+ , hormona tiroidea, y glucocorticoides), pueden contribuir en parte al exceso de VO_2 post-ejercicio.

4.1.1.2. El ácido láctico durante el ejercicio y en la recuperación

Inmediatamente después del ejercicio, el ácido láctico suministra un inmediato reservorio metabolizable de sustrato; su entrada en el ciclo del ácido cítrico y su consecuente oxidación

constituye una vía importante de metabolismo como hemos comentado. Además, el lactato puede también servir como precursor gluconeogénico o incorporarse a los aminoácidos y las proteínas. La oxidación de lactato no origina en sí misma un elevado VO_2 ya que sustituye a otras sustancias como fuente de energía⁵¹.

La producción de lactato es constante y no solamente con el ejercicio intenso. Un nivel constante de ácido láctico, en reposo y ejercicio, significa que la entrada y salida de lactato de la sangre están en equilibrio. Durante el ejercicio, el flujo de lactato aumenta para un nivel determinado de lactato en sangre; además, este aumento es mayor en sujetos entrenados en resistencia, para el mismo nivel de lactato en sangre.

Durante las pruebas de ejercicio incremental, el nivel de lactato aumenta bruscamente a partir de un VO_2 de alrededor del 60%. Los responsables del punto de inflexión de lactato, erróneamente llamado *umbral anaerobio* durante el ejercicio progresivo parecen ser varios: la contracción, que en sí misma estimula la glucogenolisis; la estimulación simpática que resulta en secreción de epinefrina y glucagón, y el exceso en la producción de piruvato que será convertido en lactato por la LDH; el cambio en el modelo de reclutamiento hacia fibras musculares glicolíticas rápidas; y la redistribución del flujo sanguíneo desde tejidos gluconeogénicos eliminadores de lactato, hacia tejidos glicolíticos productores de lactato⁵¹.

Por tanto, el aumento de lactato durante el ejercicio significa que los mecanismos de eliminación del mismo son inadecuados para acomodar el aumento en la producción de lactato en el músculo y otros tejidos. Durante un ejercicio que demanda continuamente un incremento en la potencia, la producción y liberación de lactato en sangre es más rápida que el mecanismo de eliminación. Sin embargo, durante un ejercicio continuo submáximo los niveles pueden estabilizarse o descender cuando los mecanismos de eliminación compensan la producción aumentada⁵¹.

4.1.2. Consumo máximo de oxígeno: capacidad del sistema cardiovascular

El consumo máximo de oxígeno ($\text{VO}_{2\text{max}}$) puede ser definido como el más alto nivel alcanzable de VO_2 a pesar de aumentar la intensidad del ejercicio o la potencia. Cuando en un ejercicio la intensidad se incrementa gradualmente del reposo hasta un nivel máximo, se

produce un aumento del VS durante la fase temprana, y un incremento casi lineal de la FC y de la dif O_2 (a-v) . Así, el VO_2 pasa de un valor de 0.25 l/min en reposo a un valor que se sitúa alrededor de los 3.0 l/min (varón, sedentario, 70 Kg de peso) o (43 ml/Kg/min) al ejercicio máximo y que puede aumentar con el entrenamiento. El incremento del gasto cardiaco se aproxima a 5 l/min por cada l/min de VO_2 ⁵¹.

El gasto cardíaco y la dif O_2 (a-v) están relacionados. La dif O_2 (a-v) depende de la velocidad de difusión de oxígeno de la sangre hacia la célula y de la capacidad de la mitocondria para usar el oxígeno. Pero también depende del flujo sanguíneo al tejido, y de la curva de disociación de la hemoglobina, hemoglobina y mioglobina. Al aumentar la intensidad del ejercicio a un nivel máximo, la extracción de oxígeno se incrementa en los músculos activos y a la redistribución sanguínea origina una dif O_2 (a-v) máxima de alrededor de 170 ml/ O_2 /L de sangre.

El VO_{2max} va a estar limitado por el gasto cardíaco máximo y la anaerobiosis muscular. Además, la capacidad de transporte de oxígeno como medida por el VO_{2max} y el gasto cardíaco máximo, determinan la aptitud en la mayor parte de los tipos de ejercicio y es el mejor predictor del rendimiento en los deportes de resistencia⁵¹. Aunque, otros factores parecen influir de forma importante en esta capacidad, en general, los valores altos de VO_{2max} se consideran como prerrequisitos para una buena resistencia, pues reflejan la capacidad de los individuos para realizar ejercicios de alta intensidad antes de que el sistema se autolimite; de manera que las capacidades de transporte de oxígeno se logran por otras adaptaciones del sistema cardiovascular.

La determinación del VO_{2max} debe reunir ciertos criterios objetivos. En primer lugar el ejercicio debe utilizar al menos el 50% de la masa corporal total, debe ser continuo y rítmico y efectuado durante un prolongado periodo de tiempo. El sujeto debe lograr su capacidad máxima las mediciones deben realizarse en condiciones experimentales estándar, y los resultados deben ser independientes de la motivación⁵¹.

4.1.3. Control del consumo de oxígeno y cinética de utilización

4.1.3.1. Ejercicio moderado

El ejercicio aumenta las demandas musculares de oxígeno de manera proporcional a la intensidad del ejercicio.

La respuesta fundamental del VO_2 a un ejercicio de resistencia constante de intensidad moderada puede ser caracterizada como una función exponencial, con una constante de tiempo (τ) y un incremento en VO_2 (ΔVO_2) que caracteriza la respuesta del estado-estable. La cinética del VO_2 en el ejercicio de moderada intensidad (es decir por debajo del umbral de lactato, o U_L) puede ser considerada como el reflejo de una “respuesta fundamental” y así ofrecer un marco útil de referencia para considerar cinéticas más complejas para más altas intensidades donde:

$$\Delta\text{VO}_{2\text{ms}}(t) = \Delta\text{VO}_{2\text{ms}}(\text{ee}) \times (1 - e^{-t/\tau})$$

$\Delta\text{VO}_{2\text{ms}}(\text{ee})$ es el incremento en VO_2 tisular en estado-estable, $\Delta\text{VO}_{2\text{ms}}(t)$ es el incremento en VO_2 al tiempo “t”, y “ τ ” es la constante de tiempo del VO_2 tisular¹⁰⁶.

El ejercicio induce también un aumento en el flujo sanguíneo muscular (Q_M) que se refleja instantáneamente en un aumento del flujo sanguíneo pulmonar (Q_p). Este reflejará también la perfusión proporcional a órganos y tejidos no activos y al volumen venoso vascular situado entre los músculos activos y el pulmón. Además, el tiempo de tránsito entre el lecho vascular muscular y el pulmonar hace que la influencia del contenido venoso muscular (CV_mO_2) sobre el contenido de oxígeno en sangre venosa central (CV_vO_2) se encuentre retrasada.

La consecuencia es que un incremento simple monoexponencial en el $\text{VO}_{2\text{ms}}$ se transforma en un incremento más complejo con dos componentes en el VO_2 a nivel pulmonar. El primer componente del VO_2 representa el incremento en Q_p ⁷⁸. El segundo componente está caracterizado por una función monoexponencial, de VO_2 , que está reflejando con una diferencia mínima (< 10%), el $\text{VO}_{2\text{ms}}$ ¹⁰⁷. La fórmula que represente esta segunda fase de consumo de oxígeno pulmonar sería:

$$\Delta\text{VO}_2(t) = \Delta\text{VO}_2(\text{ee}) \times (1 - e^{-(t-\delta)/\tau})$$

donde δ es el término de retraso asociado con el tiempo de tránsito entre el lecho vascular muscular y pulmonar, es decir de componente “cardiodinámico” de la respuesta del $\dot{V}O_2$, y τ es la constante de tiempo del $\dot{V}O_2$ (Fig. 4.1).

Aunque la determinación del $\dot{V}O_{2ms}$ tiene sus limitaciones asociadas fundamentalmente con las técnicas utilizadas para este propósito, el modelo temporal de respuesta de la [PCr] en músculo humano, estimada por ^{31}P espectroscopia en resonancia magnética nuclear (^{31}P -RMN)^{78,108,109}, y su emparejada exponencialidad con $\dot{V}O_{2ms}$ en otras especies⁷⁸, soportan la aseveración de que la respuesta del $\dot{V}O_{2ms}$ en humanos es monoexponencial durante el ejercicio moderado.

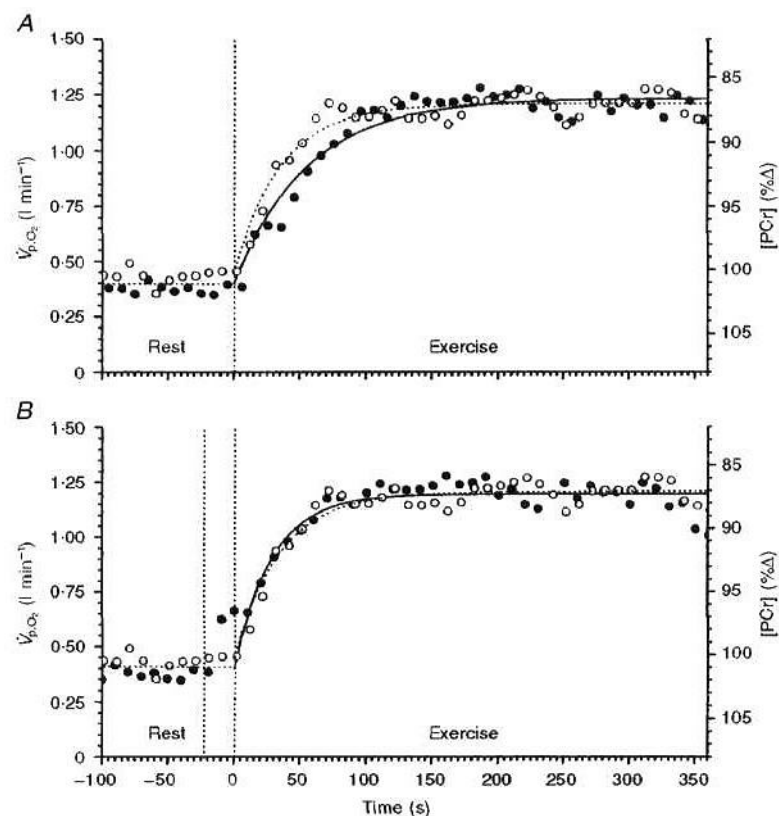


Figura 4.1. Modificado de Rossiter H.B., 1999¹¹⁰. Las respuestas de \dot{V}_{PO_2} y [PCr] a un cambio de intensidad moderada en el “work rate” para un sujeto. Las respuestas se superponen para mostrar la diferencia, caso A, y la similitud, caso B de las mismas. A, muestra el \dot{V}_{PO_2} (●) ajustado a una monoexponencial. En B, se muestra el desfase en el tiempo de tránsito entre el lecho vascular muscular y pulmonar

Aunque la $\tau\dot{V}O_2$ y la τPCr varían ampliamente entre sujetos, no hay diferencias significativas entre ellas, ni entre el inicio del ejercicio (*fase tránsito on*, déficit de oxígeno) y la

recuperación inmediata (*fase off*, o de deuda de oxígeno). La τVO_2 se encuentra entre los 30–40 segundos entre individuos jóvenes y sanos, y puede enlentecerse experimentalmente (β -bloqueantes)^{76,78,111}. Tiende a ser más corta en sujetos entrenados y apreciablemente más larga en sujetos sedentarios, ancianos, y pacientes con enfermedad cardiorrespiratoria¹¹². Además, no difiere apreciablemente entre intensidades de trabajo de rango moderado; es decir, que la elevación transitoria temprana en el lactato sanguíneo arterial (L^-), frecuente a estas intensidades de esfuerzo, no parece influir de forma significativa en la respuesta de VO_2 .⁷⁸

La demostración de este curso exponencial del $\text{VO}_{2\text{ms}}$ durante el ejercicio apoya la discusión de que la cinética del $\text{VO}_{2\text{ms}}$ esté determinada predominantemente, si no exclusivamente, por mecanismos intracelulares⁷⁸. Los mecanismos precisos que controlan la cinética respiratoria muscular no están bien establecidos, aunque se han propuesto diversos modelos de control (control por PCr, ADP, potencial de fosforilación, sustratos, disponibilidad de oxígeno), como se ha expuesto previamente en el capítulo 3.

4.1.3.2. Ejercicio de alta intensidad

En ejercicios cuya intensidad resulta en acidosis láctica, por encima del U_L , las cinéticas de $\text{VO}_{2\text{ms}}$ y de VO_2 resultan más complejas⁷⁸.

En los ejercicios considerados intensos, caracterizados por un aumento en el nivel de L^- , que posteriormente se estabiliza o incluso disminuye, el logro de un estado-estable VO_2 se retrasa apreciablemente hasta los 10 a 15 minutos. Este “exceso” de VO_2 ($\text{VO}_{2\text{ex}}$) parece originar un componente adicional de respuesta en VO_2 que se retrasa en el inicio (2-3 minutos después del comienzo) y se desarrolla lentamente, influyendo así para el retraso en el estado-estable^{113,114}. Como este componente adicional tiene un comienzo lento y retrasado, su influencia es virtualmente indetectable durante una prueba de ejercicio rápido incremental en rampa o una prueba de ejercicio de carga constante en el que el sujeto logra un $\text{VO}_{2\text{max}}$ en sólo unos minutos¹¹³.

A pesar de la elevada $[\text{L}^-]$, el componente temprano (o fundamental) de la cinética de VO_2 sigue siendo exponencial en los ejercicios intensos, con una “ τ ” no diferente a la de la

segunda fase del ejercicio moderado^{113,115}, y se proyecta a un valor asintótico de estado-estable. Hay una marcada asimetría entre el comienzo (tránsito *on*) y la finalización (tránsito *off*) de la cinética de $\dot{V}O_2$; sin embargo, el tránsito *off* permanece bien descrito por la función monoexponencial aunque ligeramente más lenta que para el ejercicio moderado¹¹³(Fig. 4.2).

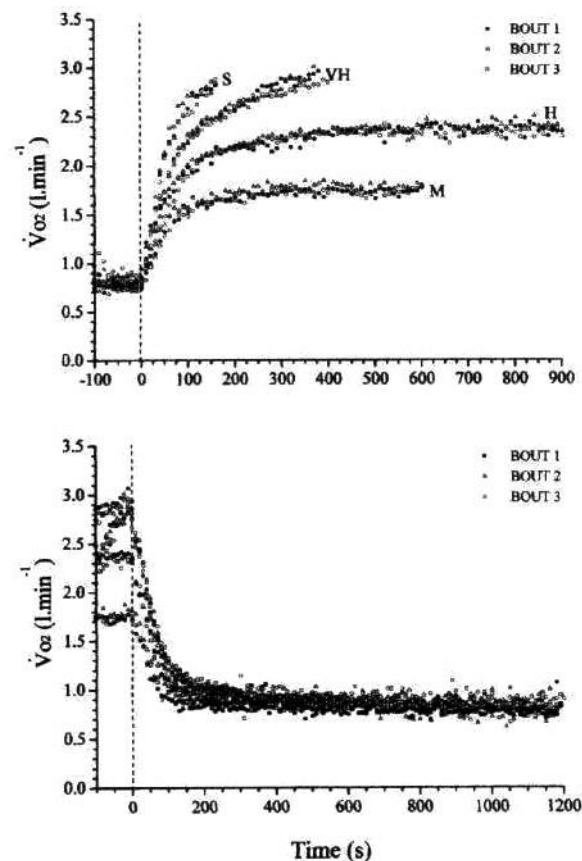


Figura 4.2. Modificado de Özyner F., 2001¹¹³ Perfiles de tránsito ON y OFF en perfiles de ejercicio severo (S), muy intenso (VH), intenso (H) y moderado (M), para un sujeto.

Hay una “potencia crítica” que demarca los ejercicios intensos de los muy intensos, que se corresponde con la más alta intensidad de trabajo a la cual puede alcanzarse un $\dot{V}O_2$ en estado-estable, y coincide con la más alta intensidad de ejercicio en la cual L^- arterial y la concentración de hidrogeniones $[H^+]$ no continúan elevándose con el trabajo⁷⁸. A más altas intensidades (trabajo muy intenso) de ejercicio el componente lento de $\dot{V}O_2$ proyecta su respuesta hacia el $\dot{V}O_{2max}$ y la fatiga que resulta cuando se alcanza este punto. La adecuada caracterización de la cinética del tránsito *off* requiere una doble exponencial¹¹³

Los mecanismos que controlan los componentes fundamental y lento de la respuesta de VO_2 por encima del umbral de lactato se encuentran en discusión (lactato sanguíneo, reclutamiento progresivo adicional, de fibras musculares rápidas, aumento del trabajo de la musculatura respiratoria y cardíaca). Sin embargo, se recoge en la literatura que la τVO_2 fundamental es similar al de la fase segunda del ejercicio moderado (por debajo del umbral de lactato con τVO_2 y $\tau[\text{PCr}]$ estrechamente emparejadas, lo que sugiere un control del ejercicio por la respiración mitocondrial^{78,113}

La demostración de que un componente lento VO_2 se acompaña por un componente lento intramuscular de declive de $[\text{PCr}]$ habla a favor de un alto coste de fosfatos en la producción de fuerza, más que un alto coste de oxígeno en la producción de fosfatos como el determinante (o al menos el componente dominante) del exceso del VO_2 ¹¹⁶.

4.2. DINAMICA CARDIOVASCULAR DURANTE EL EJERCICIO

4.2.1. Aporte de oxígeno y nutrientes al músculo durante el ejercicio

Los sistemas respiratorio y cardiovascular contribuyen de forma integrada a asegurar que, para un extenso rango de actividad física el gasto cardíaco esté emparejado a los requerimientos metabólicos del organismo. A este fin, el gasto cardíaco puede aumentar en 7 u 8 veces su valor en reposo de 5 l/min¹¹⁷. Esto se logra por aumento del volumen sistólico (VS) y de la frecuencia cardíaca (FC), donde los aumentos en el VS son el resultado directo de elevaciones en el retorno venoso, lo que lleva a incrementos en el volumen diastólico ventricular; aumento en la contractilidad miocárdica, y ajustes en la impedancia del sistema vascular durante la sístole. Además del gradiente entre las presiones aórtica y venosa central generadas por el corazón, los ajustes en el sistema de circulación periférica junto con las acciones combinadas de la bomba respiratoria, abdominal y muscular son esenciales para ofrecer un retorno venoso suficiente al corazón durante la actividad física incrementada¹¹⁷.

4.2.2. Respuestas cardiovasculares al ejercicio

El ejercicio pone en marcha una compleja integración de la regulación local de flujo sanguíneo para activar los músculos esqueléticos y una regulación neural de la respuesta hemodinámica.

El objetivo del sistema cardiovascular es aumentar el flujo de sangre hacia los músculos en actividad lo que se consigue incrementando la presión sanguínea de perfusión, que depende inevitablemente de la presión arterial media. La presión arterial media (PAM) es igual al gasto cardíaco (Q) multiplicado por las resistencias periféricas totales (RPT):

$$PAM = Q \times RPT = VS \times FC \times RPT$$

Con el ejercicio las resistencias vasculares periféricas disminuyen por la vasodilatación que ocurre en el músculo activo. Desde el reposo al ejercicio máximo la caída en resistencias se sitúa entre el 50-60% del valor de reposo. Estos cambios vasculares acomodan la elevación del gasto cardíaco en 7 a 8 veces, con sólo un ligero aumento en la presión arterial media ⁵¹.

4.2.2.1. Gasto cardíaco

La respuesta cardíaca al esfuerzo comprende la integración de la FC, precarga, postcarga y contractilidad. La contribución relativa de cada uno de estos parámetros depende del procedimiento de medición de la función ventricular, de la posición corporal, de la intensidad, duración y tipo de esfuerzo, y del grado de entrenamiento de los sujetos estudiados.

En una fase inicial del ejercicio aumenta el VS a expensas de la precarga. A medida que aumenta la intensidad, los valores se estabilizan alcanzando una meseta aproximadamente al 50% del VO_2 . A máxima intensidad, el incremento del gasto cardíaco se produce prácticamente a expensas únicamente del aumento de la FC. Las modificaciones en el volumen telediastólico y telesistólico conducen a un aumento progresivo en la fracción de eyección⁵¹.

4.2.2.2. Redistribución del flujo sanguíneo

Durante el ejercicio, la sangre se redistribuye desde los tejidos inactivos a los tejidos activos (músculos en actividad); el equilibrio entre los requerimientos para mantener la presión sanguínea y los circulatorios de otros tejidos determinan el flujo sanguíneo muscular. Ciertas áreas tienen un flujo sanguíneo preferente, como el cerebro y el corazón, lo que se interpreta como un “mecanismo protector” asociado con la regulación circulatoria que previene de la isquemia coronaria y del sistema nervioso central y mantiene el volumen sanguíneo central. Durante el ejercicio estos mecanismos condicionaran el flujo sanguíneo a los músculos cuando no pueden lograr simultáneamente las necesidades del corazón, sistema nervioso central, músculos activos, pulmones y sistema termorregulador. Estas modificaciones sobre el flujo sanguíneo limitan la intensidad del ejercicio así que el gasto cardíaco máximo se logra sin que el corazón y los músculos alcancen el metabolismo anaerobio para sostener el ejercicio¹¹⁷

4.2.3. Regulación y control de la respuesta cardiovascular

El flujo de sangre que llega a un tejido depende de la presión de perfusión y de la resistencia vascular al flujo. En tanto que la presión media se mantiene dentro de límites estrechos, el flujo sanguíneo se alcanza por variaciones en la resistencia vascular⁵¹

4.2.3.1. Mecanismos de control central

El control neural de la circulación comprende un comando circulatorio central, un centro de control cardiovascular y las aferencias periféricas. El comando central es responsable de controlar la frecuencia cardíaca, la presión arterial y la contractilidad cardíaca a través de su influencia sobre la actividad del sistema nervioso simpático (centro de control cardiovascular) y del parasimpático. El centro de control cardiovascular situado en la formación reticular del tronco, recibe durante el ejercicio impulsos del comando central, del hipotálamo, barorreceptores, quimiorreceptores y aferencias musculares, para determinar el nivel de gasto cardíaco y de resistencias periféricas. El control hormonal depende de la liberación de catecolaminas, vasopresina, y del mecanismo de la renina-angiotensina.

También produce retención de agua y sales en el riñón incrementando así el volumen sanguíneo⁵¹.

4.2.3.2. Mecanismos de control vascular local (músculo esquelético)

Toda la información disponible parece indicar que el aumento de flujo inducido por el ejercicio al músculo esquelético es consecuencia de un sistema de control vascular local dentro del músculo esquelético.

El flujo en el músculo esquelético es bajo en reposo ($5-10 \text{ ml. min}^{-1} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) debido al alto tono vasomotor que hace posible una respuesta vascular graduada, que regula la perfusión capilar en proporción a las demandas metabólicas cuando aumenta la actividad muscular. El aumento de flujo observado al inicio de la actividad rítmica muscular se denomina hiperemia (a veces hiperemia funcional o activa)¹¹⁸. Los mecanismos de control relacionados con esta hiperemia incluyen un control metabólico, un control mediado por el endotelio, un control miogénico, y la bomba muscular^{119,120}.

El control metabólico se realizaría a través de metabolitos derivados de la actividad muscular que originan la vasodilatación y el reclutamiento capilar; y por tanto un mayor aporte de oxígeno a los tejidos. Se incluyen una baja PO_2 sanguíneo y/o tisular, disminución del pH, aumento de PCO_2 , aumento de osmolaridad, aumento de adenosina¹¹⁹ y/o nucleótidos de adenina, el potasio, histamina, fosfatos, quininas, prostaglandinas¹¹⁸

La musculatura vascular puede relajarse en respuesta a sustancias químicas liberadas por el endotelio como la prostaciclina (PGI_2), el óxido nítrico (ON) y un factor hiperpolarizante derivado del endotelio. El estímulo inicial parece ser el estrés originado en la pared vascular secundario al aumento de flujo. La disminución de la presión transmural por el aumento de presión extravascular secundario a la contracción originará vasodilatación^{119,120}.

El mecanismo de bomba muscular parece ser importante en el establecimiento de la hiperemia. La “bomba muscular” propulsa rítmicamente la sangre desde los vasos

musculares durante la contracción rítmica relleniéndose la bomba durante la relajación muscular¹¹⁹.

4.2.4. Flujo sanguíneo muscular durante el ejercicio

Los mecanismos de la hiperemia pueden diferir en su importancia relativa o pueden ser diferentes a los mecanismos responsables en mantener el flujo al comienzo del ejercicio. La introducción de los ultrasonidos Doppler ha permitido la determinación de la velocidad de la sangre en vasos¹²¹. Estos estudios demuestran una fase transicional en que el aumento de flujo sanguíneo inicial es muy rápido y las constantes de tiempo (tiempo para lograr $\frac{1}{2}$ del pico- $T_{1/2}$) calculadas para diferentes intensidades de ejercicio varían y se sitúan entre los 5 y 10 segundos. Aunque se ha propuesto tradicionalmente un mecanismo neurogénico de control, factores mecánicos, como la acción de bombeo muscular, parecen explicar este aumento instantáneo del flujo.

Dependiendo de la intensidad de trabajo el nivel del flujo sanguíneo se estabiliza entre los 30 – 90 segundos. En esta fase de estado-estable, otros métodos aparte de los ultrasonidos como la termodilución¹²² pueden usarse para la determinación precisa del flujo sanguíneo. Independientemente de la capacidad de ejercicio individual y del estado de entrenamiento la intensidad del flujo sanguíneo está determinada primariamente por la potencia del ejercicio.

En el ejercicio máximo el gasto cardiaco de un adulto sano es de unos $21 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ lo que resulta en un flujo sanguíneo muscular aproximado de $60 \text{ ml} \cdot 100 \text{ ml} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$. Sin embargo, se han demostrado flujos de hasta $200 \text{ ml} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, en ciertos músculos durante el ejercicio, alcanzándose valores de hasta $300 \text{ ml} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ en individuos entrenados o sometidos a condiciones de hipoxia^{123,124}. Es decir, que el flujo máximo muscular puede aumentar de forma importante y este aumento parece estar determinado además por la masa muscular activa.

Cuando se realiza un ejercicio con una pequeña masa muscular los factores vasodilatadores locales tienen una influencia predominante sobre la regulación del flujo. Cuando el ejercicio realizado es intenso y están involucradas grandes masas musculares aunque los factores

locales que inducen una hiperemia son muy pronunciados su efecto es atenuado por la actividad creciente del sistema nervioso simpático en su papel de vasoconstrictor¹²⁰.

4.2.5. Limitaciones del transporte y utilización en las cinéticas de $\text{VO}_{2\text{ms}}$

Además de los factores metabólicos y/ o de la activación de enzimas mitocondriales ya comentados como limitantes de la fosforilación oxidativa otros factores relacionados con el transporte de oxígeno podrían reflejar las inercia del aporte de O_2 a la mitocondria. En este caso una mayor disponibilidad de oxígeno sería capaz de incrementar su utilización por la mitocondria.

4.2.5.1. Limitación por el transporte de oxígeno

Si el transporte de oxígeno limitara el $\text{VO}_{2\text{ms}}$, las alteraciones en el contenido de oxígeno y en la PO_2 de la sangre arterial o en la adaptación del flujo sanguíneo modificarían el $\text{VO}_{2\text{ms}}$. Pero además, sería necesario demostrar un aumento en el aporte de oxígeno muscular en relación a la condición de “normalidad”. No hay acuerdo, sin embargo, sobre lo que constituye la situación control o la condición de normalidad de un ejercicio.

Diferentes ejercicios o situaciones, muestran que el transporte de oxígeno no parece ser un factor limitante en condiciones normales de ejercicio. Un ejercicio de bicicleta a nivel del mar FIO_2 de 10%, una alteración adaptativa del GC por β -bloqueantes, o una reducción de la presión de perfusión un ejercicio en supino resultan en cinéticas de VO_2 más lentas, pero hay pocas evidencias que sugieran que el $\text{VO}_{2\text{ms}}$ pueda acelerarse⁷⁶.

Si se utiliza como condición de control una modalidad diferente de ejercicio ,por ejemplo una presión negativa aplicada sobre la región inferior del organismo mientras se efectúa un ejercicio de bicicleta en supino, la oclusión vascular sobre una pierna sobreañadida a un ejercicio de brazo antes de un ejercicio intenso; o el posicionamiento del brazo por debajo del nivel cardíaco (comparado con posicionamiento superior) en un ejercicio de antebrazo mejoran la cinética y no excluyen la limitación⁷⁶.

Las limitaciones de la técnica utilizada para la estimación de la cinética del $\text{VO}_{2\text{ms}}$ contribuyen a esta confusión.

Estudios que han utilizado la estimación del $\text{VO}_{2\text{ms}}$ a través de la determinación de la fase 2 del VO_2 alveolar, han mostrado que la interrelación entre ambas es sensible a las diferencias en las cinéticas de flujo de sangre muscular; y por tanto las estimaciones de $\text{VO}_{2\text{ms}}$ deberían ser tomadas con precaución cuando la adaptación a la perfusión muscular difiere del $\text{VO}_{2\text{ms}}$ ^{76,94}.

Si la estimación del $\text{VO}_{2\text{ms}}$ se hace a través del principio de Fick en un ejercicio voluntario, la mezcla de sangre proveniente de músculos activos y no activos⁴⁶, puede introducir errores en la estimación de la diferencia arterio-venosa de oxígeno de músculos involucrados en el ejercicio. La heterogeneidad del reclutamiento motor y del aporte vascular pueden contribuir a esta diferencia. Sin embargo, la estimulación eléctrica que recluta todas las fibras musculares puede asegurar todo el aporte de sangre desde el músculo activo⁷⁶.

Algunos trabajos resaltan la importancia de la bomba muscular en el ejercicio, como mecanismo de la no existencia de incrementos en O_2 (a-v) en los 10-15 segundos iniciales de ejercicio, como ocurre durante el pedaleo en posición ortostática; frente al ejercicio de brazo situado por debajo del nivel cardíaco en el que el ejercicio no tiene este efecto. En estos casos¹²⁵, el flujo sanguíneo parece exceder al $\text{VO}_{2\text{ms}}$ calculado en los primeros segundos del ejercicio por efecto de la bomba muscular sobre la distribución del flujo inicial, de manera que el drenaje venoso temprano de esa región (que permitiría la estimación de $\text{VO}_{2\text{ms}}$) procedería en parte de musculatura inactiva y por tanto sería rico en oxígeno. Al continuar el ejercicio predominaría el drenaje venoso de regiones activas y el VO_2 calculado debería ser más estrechamente relacionado con el consumo de oxígeno muscular.

4.2.5.2. Limitación por el gasto cardíaco y flujo sanguíneo muscular

El estudio de las cinéticas combinadas de adaptación de gasto cardíaco y de flujo sanguíneo muscular al ejercicio parecen indicar que son más rápidas que las cinéticas de $\text{VO}_{2\text{ms}}$ ⁷⁶ pero que durante la segunda fase del ajuste el flujo se empareja estrechamente a las

adaptaciones metabólicas. Los resultados podrían indicar en principio que el aporte de oxígeno al músculo activo es adecuado al comienzo del ejercicio para lograr las demandas musculares, en tanto que el transporte de oxígeno parece lograr un estado-estable antes que el VO_2 ⁷⁶.

Sin embargo, el transporte de oxígeno puede no representar el flujo sanguíneo que llega al músculo activo. Circunstancias en el ejercicio que aumentan el flujo sanguíneo aumentan a su vez el $\text{VO}_{2\text{ms}}$, aunque la respuesta cinética vascular sigue siendo más rápida. Esto indica una sensibilidad de la cinética del $\text{VO}_{2\text{ms}}$ a la adaptación del flujo en estas circunstancias y sugieren una diferente distribución en el flujo que va a fibras musculares activas frente a las inactivas.

Así, para lograr un apropiado ajuste del flujo a la demanda, es requerido un mecanismo de regulación local (combinado de bomba muscular y vasodilatación) que reduzca el flujo de zonas hiperperfundidas e incremente el flujo de unidades vasculares hipoperfundidas⁷⁶.

4.2.5.3. Disponibilidad del oxígeno y PCr

Las similitudes entre las cinéticas de la PCr y las de VO_2 o $\text{VO}_{2\text{ms}}$ tanto en modelos experimentales con animales o con humanos a través de un rango de intensidades de trabajo^{94,126-128} se interpretan como evidencia de que los controladores metabólicos determinan la velocidad de adaptación del VO_2 ⁷⁰. Esta interpretación puede ser válida en condiciones en que el O_2 está presente en cantidades saturantes, pero no confirma que el aporte de O_2 sea adecuado⁷⁶.

Al comienzo de un ejercicio de moderada intensidad cuando la contribución glicolítica a la producción de ATP es mínima, la similitud en las constantes de tiempo serán independientes de si la PCr actúa como un controlador primario de la respiración mitocondrial o como equilibrador (tampón) de los niveles de ATP. Esto significa que si la adaptación del metabolismo aeróbico esta siendo limitada por una disponibilidad del oxígeno inadecuada, la similitud de sus cinéticas puede estar causada simplemente por la necesidad de depleción

de PCr para compensar un mayor déficit de O_2 frente a una mínima contribución de la glycolisis anaerobia⁷⁶.

La observación de diferentes niveles de PCr para la mismo VO_{2ms} o VO_2 bajo diferentes condiciones de oxigenación arterial indica que el O_2 puede ejercer un efecto modulador sobre, o asociados con, el nivel de controladores metabólicos requeridos para lograr una velocidad de respiración mitocondrial determinada¹²⁹.

En definitiva diferentes condiciones de ejercicio pueden afectar la cinética del aporte de O_2 por vías muy diferentes limitando la adaptación del metabolismo aeróbico muscular al ejercicio, pero es probable que la inercia metabólica pueda interactuar como factor limitante; las posibles localizaciones de estas limitaciones necesitan ser investigadas⁷⁶.

5. ESPECTROSCOPIA DEL FOSFORO-31 EN RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR

5.1. BASES FÍSICAS DE LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

El fenómeno de resonancia magnética nuclear (RMN) fue descubierto simultáneamente en 1946^{130,131} por Edward Purcell de la Universidad de Harvard y por Félix Bloch de la Universidad de Stanford. Estos investigadores demostraron originalmente cómo usar la energía electromagnética para interactuar selectivamente con los campos magnéticos de núcleos atómicos específicos. La frecuencia a la cual los núcleos absorbían energía se llamó frecuencia de resonancia y al experimento, fenómeno de resonancia magnética nuclear. En 1952, ambos científicos obtuvieron el Premio Nobel en física por sus trabajos.

La generación de la señal de RMN puede ser inducida en ciertos núcleos atómicos que poseen la propiedad llamada "spin" o de movimiento de rotación sobre su eje, y en cuanto que son cargas en movimiento tienen asociado un momento magnético (μ). La aplicación de un campo magnético externo B_0 , hace que estos núcleos sean alineados en orientaciones específicas que representan niveles energéticos diferentes, determinadas por el número cuántico de spin I (Figura 5.1). En su interacción con el campo, los momentos magnéticos nucleares se ven sometidos a un par de fuerzas que les obliga a girar en la dirección del campo en un movimiento conocido como de precesión de Larmor¹³².

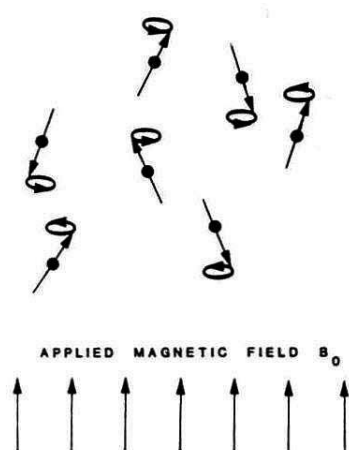


Figura 5.1. Orientaciones de los núcleos al aplicar un campo magnético uniforme B_0

Modificado de Gutiérrez G¹³²

La perturbación necesaria para la generación de la señal RMN se logra cuando la muestra se irradia con una radiofrecuencia exactamente igual a la frecuencia de Larmor del sistema. Una vez desconectado el campo magnético oscilante B_1 , el componente neto de magnetización vuelve gradualmente a su orientación original. Esto se refleja en la disminución en amplitud que irá experimentando la señal de RMN y se manifiesta como una corriente oscilante decreciente inducida en la bobina receptora. La señal inducida (Free Induction Decay: FID) es la autentica señal de RMN¹³³.

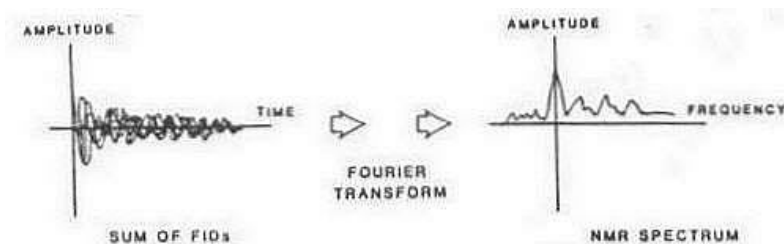


Figura 5.2 La suma de FIDs se transforma al dominio de la frecuencia para obtener el espectro

Modificado de Gurierrez G.¹³²

En la mayor o menor rapidez de amortiguación de la señal influirán dos factores cuyo resultado será que no todos los núcleos experimentarán el mismo campo magnético. El primero, la aplicación de campos no homogéneos; y el segundo las interacciones de espines nucleares, por las que cada núcleo se verá sometido al campo externo más la contribución de los campos locales vecinos, que proporciona información sobre la muestra en estudio. Por tanto, es deseable disponer de instrumentos de RMN donde los campos generados sean homogéneos. Con ello se conseguirá que la señal sea menos amortiguada y por tanto una mejora en la resolución espectral¹³⁴.

Un proceso matemático conocido como Transformada de Fourier va a descomponer esta señal en sus frecuencias individuales; la señal se puede ahora representar en un diagrama de líneas o barras donde se coloca una banda a cada una de las frecuencias calculadas por el análisis. En condiciones ideales el área bajo cada pico de frecuencias es proporcional a la intensidad de la señal y por consiguiente al número de núcleos resonantes^{132,134}.

La baja sensibilidad de la RMN se refleja en la pequeña intensidad de la señal en relación al ruido térmico y eléctrico que aparece en una medida espectroscópica. Esta condición obliga

a acumular varias señales de FID de una misma muestra, como recurso para aumentar la relación señal/ruido. Si se aplican pulsos sucesivos antes de que la magnetización longitudinal esté totalmente recuperada, ocurre un efecto de “saturación nuclear”, este efecto no es el mismo para todos los metabolitos, y debe ser tenido en cuenta para aplicar factores de corrección a los datos¹³⁴.

Los picos contenidos en el espectro de RMN corresponden a las frecuencias de resonancia de los grupos químicos que contienen un particular isótopo del núcleo. Es decir, que aunque el campo magnético utilizado sea homogéneo, el campo neto experimentado por el núcleo a nivel molecular es el resultante del campo externo aplicado y del campo inducido por la nube electrónica que los rodea. Este fenómeno se conoce con el nombre de desplazamiento químico. Así las diferentes bandas o picos que aparecen en el espectro RMN, se caracterizarán por presentar diferente desplazamiento químico respecto a la frecuencia de resonancia de la especie nuclear en estudio^{133,134}.

El porcentaje de desplazamiento químico se mantiene, cualquiera que sea el valor del campo magnético aplicado, así para su cuantificación se utiliza una escala relativa: la escala δ , que se expresa en partes por millón (ppm). Dicha escala nos informa sobre el desplazamiento relativo de la frecuencia de precesión de un núcleo en un entorno químico dado respecto a una frecuencia de referencia. De esta forma, el valor δ representa el tanto por millón, o mejor, las partes por millón en que la frecuencia del núcleo en cuestión se ha desplazado respecto a una frecuencia arbitrariamente escogida (referencia externa o referencia interna).

La ventaja de utilizar la escala δ radica en que los valores de desplazamiento químico se mantienen constantes, cualquiera que sea la intensidad del campo bajo el que se realizan las medidas de RMN¹³⁵. Esto permite la comparación inmediata entre espectros de una misma muestra obtenidos en diferentes equipos de RMN.

5.2. LA ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE FÓSFORO ^{31}P PARA EL ESTUDIO DEL MÚSCULO ESQUELETICO

La elección del fósforo ^{31}P como isótopo para el estudio RMN del músculo presenta múltiples ventajas¹:

- La utilización de un isótopo abundante y de buena sensibilidad, permite la adquisición de espectros relativamente simples en un tiempo limitado.
- La importante relación del conjunto de compuestos fosforilados detectables en la espectroscopia in vivo del ^{31}P , con la función del músculo como convertidor de energía químico-mecánica.

Los núcleos de fósforo presentan condiciones muy favorables para su observación espectroscópica en organismos intactos. Entre otras, una elevada abundancia natural, un número cuántico de spin de $\frac{1}{2}$ muy favorable para su utilización espectroscópica, una limitada dispersión de los intervalos de frecuencias de precesión cubiertas por los núcleos de fósforo, y un número de picos limitado. Entre sus desventajas su baja sensibilidad que obliga a realizar gran número de acumulaciones para mejorar la calidad de la señal; y un mayor tamaño del volumen de interés, a fin de asegurar la presencia en el mismo de un número suficientemente grande de núcleos¹.

5.3. ^{31}P -RMN ESPECTRO DEL MÚSCULO ESQUELETICO

El espectro de ^{31}P -RMN obtenido del músculo registra señales de los metabolitos fosforilados con un papel central en el metabolismo energético in vivo. Por su carácter no invasivo, se ha mostrado particularmente útil para monitorizar de forma seriada el metabolismo muscular glicolítico y oxidativo durante el reposo, el ejercicio y la recuperación.

El espectro muscular de ^{31}P -RMN contiene cinco picos principales, cuyas posiciones relativas se encuentran referidas en la escala δ , a la posición que ocupa la señal considerada como referencia. En tal espectro, el eje X representa la frecuencia relativa y el eje Y la magnitud de la señal RMN. (Fig 5.3)

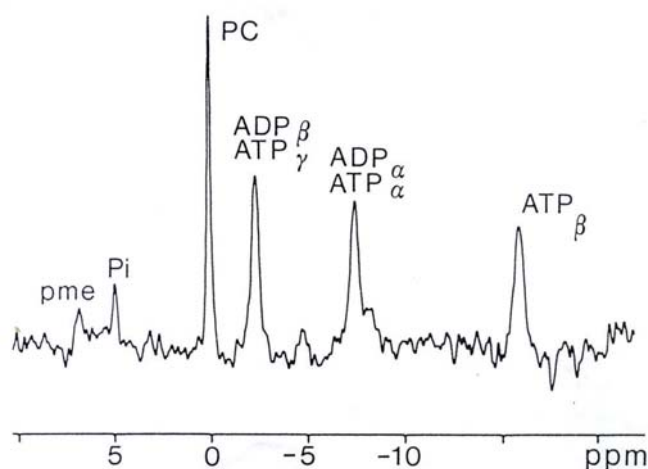


Figura 5.3 Espectro típico obtenido por RMN

La utilización de la señal de alguno de los metabolitos detectables *in vivo* como referencia interna, asegura que el compuesto de referencia experimenta el mismo entorno magnético que el resto de compuestos cuya señal es observada.

- La señal de PCr proviene fundamentalmente del citosol, es estrecha y bien diferenciada del resto de los picos obtenidos en el espectro lo que permite su fácil aislamiento. Sus altos niveles en músculo hacen que la señal derivada de este metabolito predomine en los espectros. Además la incidencia del pH fisiológico del músculo sobre la posición de esta banda es mínima ($pK=4.6$, muy alejado de los valores entre los que puede oscilar el pH celular). Por estas razones la señal de PCr es la más frecuentemente utilizada como referencia interna¹³⁴.
- La señal de Pi muestra una dependencia clara respecto al pH del medio, dado que su valor de $pK=6.75$ se encuentra en el intervalo en que se producen las variaciones fisiológicas de pH⁶. A los valores de pH fisiológicos las especies presentes de Pi serán $H_2PO_4^-$ y HPO_4^{2-} , y la proporción de cada una de ellas viene determinada por el pH del medio, de acuerdo con la expresión de Henderson - Hasselbach:

$$pH = pK + \log\left(\frac{[HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]}\right).$$

El diferente entorno químico en que se encuentra el núcleo de fósforo en cada una de esas dos especies, hace que su señal se produzca a diferentes valores de la escala δ para cada una de ellas, siendo la separación entre estas diferentes señales de 2.4 ppm. Sin embargo, el rápido intercambio en el que se encuentran ambas especies, no permite la observación individualizada por RMN de cada una de ellas y en su lugar aparece una única señal en posición intermedia entre ambas. La posición exacta de esta señal depende de la proporción de cada una de ellas¹³⁴.

- Este fenómeno es de gran utilidad en la determinación del pHi, una de las aplicaciones de la espectroscopia in vivo de P^{31} . Sustituyendo las concentraciones de cada especie por valores de desplazamiento químico del Pi en la expresión de Henderson - Hasselbach, resulta $pHi = pk + \log [\delta - \delta_2 / \delta_1 - \delta]$; donde $pk=6.75$; y δ es el valor de desplazamiento químico observado para la señal de Pi; δ_1 y δ_2 son los valores de desplazamiento químico del $H_2PO_4^-$ y al HPO_4^{2-} , respectivamente $pHi = 6.75pk + \log [\delta - 3.27 / 5.69 - \delta]$ Fórmula de Radda¹³⁶.
- Los fosfomonoésteres (PME), aparecen en el espectro de músculo humano como los intermediarios glucolíticos fosforilados (glucosa 6-P, fructosa 6-P, etc.), pero en circunstancias de depleción de ATP, como en el ejercicio severo o la isquemia prolongada, el AMP y la inosina monofosfato (IMP) pueden constituir una significativa proporción de éste pico¹³⁴.
- Un pico de fosfodiésteres (PDE)¹³⁶, que representa los metabolitos de membrana, fosfatidil-colina, fosfatidiletalona.
- Los tres grupos α , β , y γ del ATP libre. Los picos de los grupos α y β del ADP libre y el del NAD se superponen a los del ATP α y ATP γ y sólo el pico del ATP β es representativo de la concentración intramuscular en ATP libre. Así para la estimación del contenido de ATP de las células en estudio, se elige la banda β del ATP, dado que éste aparece en una región muy limpia del espectro¹³⁴.

Además de las variaciones en el pH i otra condición fisiológica puede afectar las posiciones de resonancia, es el contenido celular de magnesio. En particular, la frecuencia de resonancia del ATP β puede ser sensible a la unión al Mg^{2+} ^{137,138} y cambios en la $[Mg^{2+}]$ como resultado del ejercicio o de patologías pueden hacer variar la frecuencia de resonancia del ATP.

No todos los compuestos que contienen fósforo producen una señal visible en el espectro RMN. Los metabolitos presentes a concentraciones de al menos 1 mM producen picos suficientemente estrechos y con una relación señal/ruido suficiente para hacerse visibles. Esto significa que en gran medida el fosfato mitocondrial puede ser invisible y que las señales proceden fundamentalmente del citosol. Componentes fosforilados, normalmente en el rango micromolar, tales como el ADP o AMP, no se presentan en suficiente cantidad para su medición directa. Los niveles de estos metabolitos pueden solamente ser cuantificados de forma indirecta usando niveles de metabolitos medibles y constantes de equilibrio químico¹.

Además de su concentración, es preciso tener en cuenta que sólo los metabolitos que están libres, y no los asociados a estructuras macromoleculares o subcelulares, son visibles por ³¹P- RMN. Esto explica que las estimaciones cuantitativas de estos metabolitos no siempre coinciden con las obtenidas por métodos invasivos. Tanto éstos, como la ³¹P- NMR ofrecen resultados similares en el contenido de ATP muscular; por lo que se asume que este componente es completamente visible en el tejido¹³⁹. Sin embargo el nivel de PCr es relativamente más alto en ³¹P- RMN, siendo atribuida esta diferencia a la rotura rápida de la PCr por la reacción de la CK durante el procedimiento de toma de muestra¹³⁶; además el nivel de PCr se considera también completamente visible en RMN.

Por otra parte, la inmovilización en estructuras subcelulares o la unión a macromoléculas de una significativa proporción del Pi justifica los más bajos niveles alcanzados por ³¹P- RMN¹³⁹. Basados en estudios más detallados que sugieren la inmovilización en la matriz mitocondrial como responsables de esta diferencia¹⁴⁰, se han utilizado los cambios en la intensidad de la señal de Pi para cuantificar el consumo mitocondrial de Pi¹⁴¹. La información así obtenida resulta complementaria a la de la biopsia.

La contribución de otras fuentes de fósforo al espectro muscular es escasa y esto por varias razones: El fosfato óseo está altamente inmovilizado, y la señal que puede ser detectada es tan ancha que no produce una contribución efectiva al espectro. La concentración de fósforo en el espacio extracelular constituye el 10% del volumen del tejido total, y su contribución es despreciable en el espectro observado. No hay una significativa contribución desde la sangre, pues la señal de 2,3-difosfoglicerato no puede ser vista en el espectro⁶. La piel y la grasa no producen señal significativa, pero en este caso es debido a la extremadamente pequeña cantidad de metabolitos energéticos fosforilados presentes en esos tejidos metabólicamente inactivos¹⁴².

5.4. PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

La información obtenida del espectro ^{31}P -RMN es tanto cualitativa (identificación de metabolitos) como cuantitativa (medida de concentraciones).

Como la superficie de cada una de las señales del espectro es proporcional a la concentración de los principales compuestos fosforilados: PCr, Pi, ATP_β , PME, PDE. Los niveles de un metabolito pueden ser expresados como porcentaje del fosfato total o suma de todos los compuestos detectados (S). Además a través del desplazamiento de la señal de Pi respecto a la señal de PCr se puede determinar el pH intracelular¹.

Expresada esta relación PCr/S , Pi/S , $\text{ATP}_\beta/\text{S}$; se pueden cuantificar las concentraciones relativas de cada metabolito de acuerdo con el mismo estándar interno. Además se puede determinar la concentración de cualquiera de estos metabolitos en relación a sus valores de reposo¹.

La ^{31}P -RMN permite también calcular los niveles absolutos de estos metabolitos; y debido a la complejidad relacionada con el uso de una señal de calibración externa, la mayoría de los estudios usan el pico de ATP como estándar interno. Las concentraciones metabólicas derivan entonces de la razón entre los picos relevantes y el pico de ATP ($\text{PCr}/\text{ATP}_\beta$, $\text{Pi}/\text{ATP}_\beta$). Sin embargo estos cálculos requieren ciertas asunciones. Se asume que la concentración media de ATP en músculo esquelético es de 8.2 mmol/L de agua

intracelular⁶¹; que la concentración total de Cr es de 42.5 mmol/L de agua intracelular; el PCr + Pi es igual a 42.2 mmol/L de agua intracelular; y que estos componentes están uniformemente distribuidos a través de 670 cm³ de agua intracelular; y que no hay cambio en la Cr total durante el ejercicio. Se da un valor de $1.66 \times 10^9 \text{ mol}^{-1}$ ⁶¹ para la constante de equilibrio (K_{eq}) de la reacción de la CK, calculada a pHi de 7, temperatura de 38° C, fuerza iónica de 0.25 y asumiendo 1 mmol de Mg²⁺. Como la reacción de la CK se mantiene probablemente cercana al equilibrio⁶¹, el valor de la razón de acción de masas se aproximará a esta constante. Todas las asunciones anteriores permiten además calcular el nivel de ADP y de la energía de libre (ΔG_{ATP}) a pesar de que el espectro de ³¹P-RMN no permite la determinación del pico correspondiente.

5.5. EL APARATO (TOMÓGRAFO) DE RESONANCIA MAGNETICA

Básicamente los sistemas de RMN constan de un imán generador de un campo magnético; bobinas creadoras de los gradientes de campo; una antena emisora de los pulsos de radiofrecuencia y una antena receptora de la señal; y de un potente ordenador para el procesamiento de los datos. El valor del campo magnético generado por el imán se expresa en Teslas (T) o en Gauss. Un Tesla equivale a 10.000 Gauss (Un Tesla es aproximadamente 100.000 veces el valor del campo magnético terrestre). El valor del campo magnético creado por el imán determina el tomógrafo de resonancia magnética. También puede indicarse la frecuencia de emisión en que trabaja¹⁴³.

Los campos utilizados en resonancia magnética nuclear pueden ser creados por imanes permanentes o bien por corrientes eléctricas. Los imanes permanentes logran el campo magnético acumulando material que tiene de por sí propiedades magnéticas naturales. El principal inconveniente que ofrecen es que los campos magnéticos posibles no sobrepasan los 0.3 Teslas. Los electroimanes, es decir, aquellos que logran el campo magnético mediante el paso de la corriente se dividen en dos tipos: el resistivo y el superconductor. Con el resistivo no se suelen superar fuerzas de campo superiores a 0.4 Teslas, en ellos su problema principal es lograr una buena estabilidad del campo magnético.

El otro tipo de electroimanes es el superconductor, basado en aprovechar las propiedades de ciertos materiales (titanio) que, enfriados a temperaturas cercanas a cero absoluto, se convierten en superconductores; es decir, pierden toda resistencia al paso de una corriente eléctrica, con lo que se asegura un campo magnético permanente sin gasto eléctrico pero con el coste que significa mantener el conductor a tan bajas temperaturas, lo cual se logra mediante helio y nitrógeno. Los electroimanes superconductivos (solenoides) logran campos magnéticos más elevados que los otros tipos de tomógrafos, consiguiendo una estabilidad muy buena y siendo los utilizados en espectroscopia *in vivo*. Uno de los problemas prácticos en cuanto al campo magnético es lograr en el volumen de exploración, la mejor uniformidad del campo magnético. Esto se realiza mediante el diseño del conductor. Normalmente se utiliza el diseño en solenoide o en anillos¹⁴³.

5.6. LIMITES DEL APARATO. LA TECNICA

Los sistemas de RMN utilizados comúnmente en clínica operan en su mayoría a 1.5 Teslas y se destinan para usar el núcleo de ^1H para la obtención de imágenes. Para efectuar ^{31}P -RMN con estos sistemas se requiere un hardware y un software adicional y una bobina de radiofrecuencia especializada; y para optimizar la prestación un segundo canal de radiofrecuencia.

El ^{31}P -RMN de músculo esquelético puede efectuarse también usando sistemas de RMN experimentales con fuerzas de campo de hasta 4.7 Teslas pero el espacio en el interior del imán es muy limitado. Estos modelos permiten solamente el estudio de las regiones más distales de las extremidades (antebrazo, pantorrilla) y en la mayoría de los casos una posición fija horizontal del miembro, mientras que los sistemas clínicos con mayor espacio permiten una mayor libertad en la posición⁶¹.

Un hecho indudable de la técnica es que los experimentos dinámicos, incluyendo el ejercicio muscular, ofrecen una información más rica sobre el estado funcional del músculo. Esto ha propiciado el desarrollo de dispositivos ergométricos, contruidos con material amagnético que permiten efectuar un esfuerzo muscular directamente en el interior del imán y efectuar un registro espectral simultáneo¹⁴⁴⁻¹⁴⁶.

La principal ventaja de la utilización de fuerzas de campo más intensas es la mejoría en la sensibilidad y en la resolución espectral; de modo que puede esperarse que la aplicación de ^{31}P -RMN *in vivo* al músculo esquelético humano con fuerzas de campo superiores (7 o 8 Teslas) permitirá el estudio más preciso del metabolismo muscular en el futuro

5.7. LOCALIZACIÓN ESPACIAL

Uno de los aspectos más claramente diferenciadores de la espectroscopia de RMN *in vivo*, es el referente a los métodos de localización espacial y ha sido uno de los campos que más investigación ha experimentado en el desarrollo de esta técnica. Estos surgen de la necesidad de alinear perfectamente la muestra en la región central del imán, donde la homogeneidad del campo magnético es óptima, lo que permitirá optimizar la resolución espectral¹³⁴.

Los métodos de localización espacial consisten en generar gradientes artificiales de campo magnético, es decir introducen variaciones en la intensidad del campo aplicado; bien aplicando los gradientes en el campo proporcionado por el imán, o bien en el campo oscilante proporcionado por la radiofrecuencia. Su consecuencia es que el volumen observado queda sometido a un campo no homogéneo excepto en el volumen de interés (VDI). Esto, permite perfilar la zona que se quiere que experimente un campo magnético homogéneo, generalmente de simetría esférica¹³⁴.

5.7.1. Bobinas de superficie

Para la localización del VDI se utilizan dispositivos conocidos como *bobinas de superficie* (o *antenas de superficie*). Básicamente se trata de utilizar una bobina de material conductor, que se dispone en la superficie del organismo en estudio, de forma que el órgano o tejido del que se pretende recoger la señal de RMN quede centrado con la citada bobina. Las dimensiones de la bobina están adaptadas a las dimensiones del tejido a estudiar (ej: músculo) y muestrean selectivamente un área de un diámetro aproximadamente igual al de la bobina y de una profundidad igual a su radio (semiesfera). (Figura 5.5) El volumen y la

localización espacial del tejido examinado puede variar cambiando el tamaño y la localización de la bobina y/o alterando los límites regionales del área del campo homogéneo dentro del hueco central del imán superconductor^{1,147}.

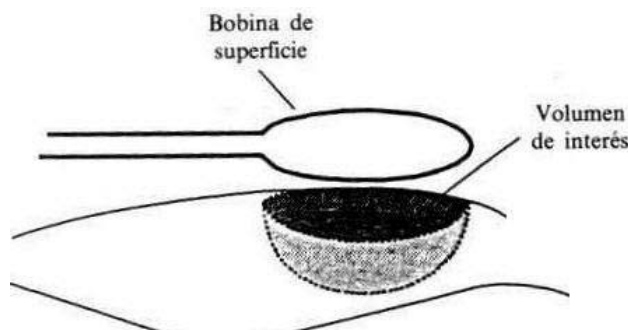


Figura 5.5 Región espacial cuya señal RMN puede ser detectada por una bobina de superficie.

Modificado de García Segura¹³⁴

Uno de los principales inconvenientes del sistema es que la localización espacial que consiguen es limitada y puede detectarse la señal de cualquier tejido que se encuentre dentro de la zona sensible de la bobina. Esto justifica que este método de localización se restrinja al estudio de tejidos y órganos periféricos. Las bobinas pueden ser empleadas no sólo para la detección de la señal sino también como emisores de radiofrecuencia para la excitación de la muestra. Lamentablemente la radiofrecuencia emitida es esencialmente no homogénea, por lo que los spines de la muestra sufren distintos influjos de radiofrecuencia¹³⁴.

Con objeto de permitir una excitación más uniforme se aplica a la muestra distintas formas de excitación (trenes de frecuencia, como el AHP (adiabatic half passage, tren de pulsos que permite un excitación uniforme de 90°) y el AFP (adiabatic full passage, tren de pulsos que permite un excitación uniforme de 180°). Nuevas técnicas de excitación como el BIR-1 y BIR-4, que son pulsos adiabáticos compuestos permiten excitaciones uniformes para cualquier ángulo deseado¹⁴⁸.

El nivel de la señal detectada y la potencia de la emisión dependen de la distancia que separa la muestra del plano de la bobina. La técnica de secuencias DRESS (depth-resolved surface-coil spectroscopy) permite seleccionar un volumen en profundidad, en forma de una

una fina lámina paralela a la superficie de la bobina, lo cual logra una mayor homogeneidad en el VDI¹⁴⁹. El mismo objetivo tienen las secuencias: VSE (Volume-selective excitation) la cual permite seleccionar un VDI de forma cúbica, mediante tres gradientes de campo ortogonales; SPACE (Spatial and Chemical Shift Encoded Excitation); SPARS (Spatially Resolved Spectroscopy); PRESS (Point resolved spectroscopy); STEAM (Stimulated echo acquisition mode).

Aunque estas aproximaciones son convenientes y sensibles, a veces es necesaria una más precisa localización espacial¹. Así, se han desarrollado técnicas de gradiente de campo magnético que permiten seleccionar un área particular en el tejido y obtener múltiples espectros RMN de esa zona específica. Una técnica es la conocida como ISIS ("Image Selected In vivo Spectroscopy")^{150,151}. Este método de localización espacial se basa en extender a tres dimensiones la secuencia PRESS, lo que permite seleccionar las dimensiones del VDI y posicionarlo sobre la imagen MRI estándar.

Las técnicas anteriores permiten la adquisición de espectros RM para simples volúmenes sobre el tejido. Los espectros también pueden ser obtenidos desde múltiples volúmenes adyacentes sobre el tejido de interés con las técnicas de imagen espectroscópica en resonancia magnética (MRSI). El MRSI combina las propiedades de la espectroscopia y la imagen, y los datos así adquiridos se pueden representar en imágenes de escala de grises, donde la intensidad corresponde a la intensidad de la resonancia específica en el espectro RM o a la posición (desplazamiento químico) de la resonancia específica del espectro RM para cada volumen¹⁵².

5.7.2. Microbobinas implantadas

Mejores localizaciones en tejidos profundos se han obtenido a través del uso de bobinas implantadas. Pequeñas bobinas de superficie son implantadas en los órganos de interés, y así los espectros se pueden obtener en regiones más localizadas. Se han llegado a desarrollar microbobinas (< 1mm de diámetro) que insertadas vía catéter permiten espectros de volúmenes sumamente pequeños. Con modificaciones estas microbobinas pueden utilizar las mismas técnicas de localización que las usadas con bobinas grandes¹⁵².

5.7.3. Cinéticas de reacciones químicas in vivo por ^{31}P magnetization transfer

Además de las aplicaciones comentadas la ^{31}P -RMN ofrece la única posibilidad de determinar los flujos en vías bioquímicas in vivo por el método de transferencia de magnetización^{153,154}. La técnica involucra la perturbación de la magnetización de un sistema de spin nuclear en un componente particular, y monitoriza cómo la influencia de esta perturbación influye en la magnetización nuclear de este sistema de spin presente en otro componente con el cual se encuentra en intercambio químico. Esta técnica es comúnmente llamada traspaso de saturación (saturation transfer). Con éste método es posible estimar las constantes de velocidad de la reacción de la CK, y así el flujo a través de esta reacción^{136,154}. La técnica ha sido aplicada en músculo de animales y en músculo esquelético humano. En ambos tipos de estudios se ha demostrado el equilibrio de la reacción de la CK, y que el flujo a través de esta reacción es más rápido que la velocidad de intercambio del ATP; y que este valor fue similar o incluso más alto durante el ejercicio¹⁵⁵.

5.8. ASPECTOS DE SEGURIDAD

La principal ventaja de la técnica de RMN, su carácter no invasivo y no destructivo, es una de las razones por la que ha sido una herramienta poderosa en la física y en la química, y por la que las técnicas de imagen han ganado tan rápida aceptación en la clínica. Sin embargo, hay algunos riesgos asociados a su uso que deben considerarse para garantizar la seguridad del método¹⁷. El National Radiological Protection Board (NRPB, 1991) y el U.S. Food and Drugs Administration (1988) han editado guías para la protección de pacientes y voluntarios durante pruebas clínicas de RM, que incluyen consejos sobre los límites de exposición aceptables para campos magnéticos estáticos, gradientes y radiofrecuencias. Los campos magnéticos estáticos ejercen una fuerza débil sobre las moléculas y las partículas cargadas en movimiento; sus posibles efectos en humanos han sido revisados¹.

De acuerdo a las recomendaciones del NRPB, la exposición aguda en humanos a campos magnéticos por debajo de 2,5 Teslas es poco probable que origine efectos adversos para la salud; se permite la exposición de cabeza y tronco a campos magnéticos de hasta 4 Teslas

bajo condiciones controladas, aunque estas restricciones no se aplican a los miembros. Se ha limitado la exposición a gradientes de campo para evitar la estimulación nervios periféricos y músculos, particularmente el músculo cardíaco, por corrientes eléctricas inducidas magnéticamente. La exposición a campos de radiofrecuencia está limitada para evitar el excesivo calentamiento de los tejidos. Los protocolos utilizados en la rutina clínica cumplen mayoritariamente estas recomendaciones¹⁷.

Una importante consideración sobre seguridad se origina por los materiales ferromagnéticos situados en las proximidades del equipo de RMN. Es muy fácil que herramientas, llaves, tijeras u otros objetos metálicos, se nos escapen de las manos debido a la intensidad de los campos electromagnéticos, y se conviertan en peligrosos proyectiles. De forma similar, hay que tener especiales precauciones cuando el sujeto tiene objetos metálicos en el cuerpo, como clips metálicos, prótesis de cadera, marcapasos o metralla; generalmente la exposición está contraindicada en estos sujetos. Aunque no se ha demostrado un efecto dañino conocido sobre el feto, se restringe su uso en embarazadas de menos de tres meses, a menos que haya una prescripción médica para ello. El NRPB recomienda que los pacientes que son expuestos a exámenes de RMN deberían contar con la aprobación médica de que su uso originará un probable beneficio neto para el paciente, o que forma parte de un proyecto de investigación aprobado por un comité local de ética¹⁷.

6. CAMBIOS METABÓLICOS MUSCULARES: ESTUDIOS CON ^{31}P -RMN

6.1. OBSERVACIONES EN EL MÚSCULO EN REPOSO

Durante el reposo la fosforilación oxidativa mitocondrial aporta la mayor parte de energía al músculo y van a ser visibles en el espectro de ^{31}P -RMN los metabolitos musculares que provienen de la PCr, Pi, los tres grupos de ATP, PME y PDE.

En el espectro se diferencia bien el pico de PCr, la relación PCr/Pi está estrechamente relacionada con el potencial de fosforilación (carga energética) de las células musculares in vivo. Dependiendo del músculo estudiado y del método de cuantificación, la relación normal de PCr/Pi es de 6-12 en músculo humano¹⁵⁶.

Un importante regulador de la velocidad de síntesis mitocondrial de ATP es el ADP pero no produce ningún pico visible en el espectro, pues la cantidad de ADP libre, no unido a las miofibrillas, es demasiado baja para las mediciones directas. Sin embargo, esta concentración puede ser calculada usando la reacción de equilibrio de la CK¹⁵⁷. El ADP intracelular calculado de los datos de ^{31}P -RMN es de 10-25 μM , comparable al rango calculado desde consideraciones teóricas de bioenergética y por debajo de la constante de Michaelis de aproximadamente 30 μM .

La mayor parte del pico de Pi observado en el espectro proviene de la señal recogida en el citoplasma y su posición en el espectro determina el pH_i citoplasmático. En el músculo normal, el pH intracelular tiene, aproximadamente, un valor de 7.0, siendo mucho más bajo que el pH extracelular. El Pi es probablemente el único fosfato móvil libre en solución en el citoplasma, y el metabólicamente activo en el control energético. La concentración calculada por ^{31}P -RMN de Pi es de 3-5 mM en agua intracelular, pero no se sabe qué es lo que determina este valor en reposo. La interrelación entre Pi extracelular e intracelular en músculo en reposo ha sido estudiada en pacientes con insuficiencia renal, en los que el Pi se encuentra elevado en suero¹⁵⁸; viéndose una correlación lineal entre los niveles de Pi en suero y los niveles de Pi intracelular. Por tanto, un Pi intracelular elevado no sólo refleja los procesos intracelulares involucrados en el metabolismo energético.

El Pi se transporta al interior de la mitocondria y por la reacción de la ATPasa eliminándose del citoplasma. Por eso, es frecuente encontrar valores altos de Pi en músculos de pacientes con enfermedades mitocondriales primarias, pero también en trastornos tales como distrofias musculares, miopatías inflamatorias, lesiones musculares y denervación. En estas situaciones puede estar implicada una disfunción mitocondrial secundaria asociada con la degeneración de la célula muscular, pero otros mecanismos pueden ser también importantes^{159,160}.

6.2. OBSERVACIONES DURANTE EL EJERCICIO^{31,156}

Durante el ejercicio el ATP usado para la contracción es continuamente resintetizado y su concentración celular se mantiene constante, en un extenso rango de intensidades de trabajo, por la reacción de la CK que repone grupos fosfato desde la PCr. El equilibrio se mantiene por la activación de las diferentes vías metabólicas, glicólisis anaeróbica y fosforilación oxidativa.

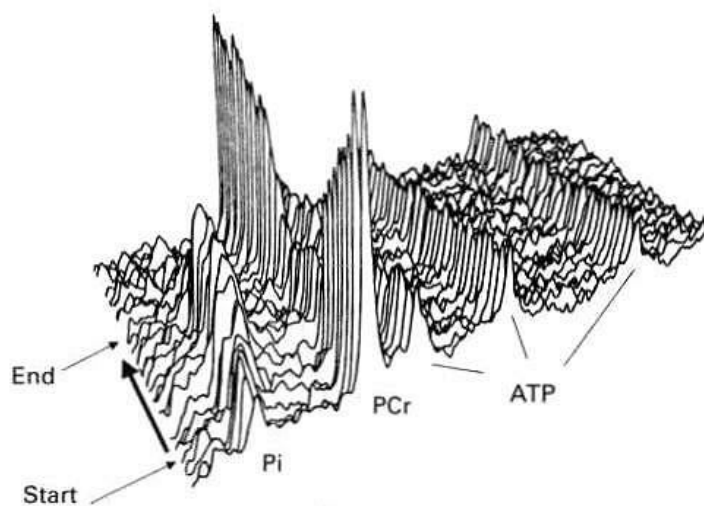


Figura 6.1 Espectro típico durante el ejercicio. Modificado de Heerschap A. 1999⁶¹.

Así, durante el ejercicio, la ³¹P-RMN muestra que la concentración de ATP permanece estable, mientras que la PCr cae, y que el Pi producido por la hidrólisis de ATP aumenta de

forma inversa. El ADP citosólico calculado también se eleva inicialmente aunque puede descender si el pH_i disminuye. El pH_i puede descender por activación de la glicolisis y la producción de lactato¹⁶¹. El ejercicio intenso puede producir una severa acidosis intracelular ($pH_i < 6$).

Durante el ejercicio, el metabolismo oxidativo intramuscular puede ser estudiado asumiendo que su nivel de actividad se refleja por los niveles de ADP⁷⁵, y que, por tanto, está regulado y controlado por los niveles del sustrato ADP procedente del ATP utilizado. Como se ha referido previamente en el capítulo 3, con ciertas reservas, la reacción de equilibrio de la CK puede utilizarse para estimar la [ADP] intracelular y puede ser reflejada por ³¹P-RMN a través de los cambios en PCr y Pi. Así, el cociente Pi/PCr estima los niveles de ADP en tanto no cambie el pH_i muscular ($pH_i = 7$), ya que los H^+ forman parte de la ecuación de la CK.

Chance y col⁷⁴ calcularon la función que relacionaba el trabajo a la concentración de controladores químicos ("transfer" función), a través de la interrelación entre Pi/PCr y la intensidad del trabajo. Esta interrelación seguía la cinética de hipérbola rectangular de Michaelis-Menten⁷⁴ y su porción inicial era lineal y similar a la que había sido observada en preparaciones de mitocondrias aisladas. Esto proporcionó la evidencia *in vivo* de la regulación de la fosforilación oxidativa por [ADP] del músculo esquelético durante intensidades de trabajo relativamente bajas¹⁶². En músculo entrenado, una pendiente más alta del trabajo frente al Pi/PCr reflejó una capacidad mitocondrial aumentada para mantener el ATP frente a las demandas progresivamente mayores^{36,90}. Como resultado de estos primeros trabajos, varios estudios han utilizado niveles de trabajo incremental, registrando ³¹P-RMN tras 1-3 minutos de un "cuasi" estado-estable^{36,75} para la evaluación de la *performance* muscular y el metabolismo oxidativo.

La interrelación teórica entre trabajo y Pi/PCr fue también calculada para condiciones donde el controlador metabólico no es sólo el ADP (ej: oxígeno, Pi, NaDH).

Otra aproximación a la valoración del metabolismo oxidativo del músculo durante el ejercicio, han sido las mediciones de la respuesta metabólica a un dado nivel de trabajo en

estado-estable, lo que permite periodos de tiempo más largos (de 3 a 6 minutos) para obtener datos a cada nivel de trabajo. Varios estudios de ^{31}P -RMN han mostrado que estos protocolos de ejercicio llevan a un estado-estable de hidrólisis de PCr, cuya extensión depende de la carga impuesta^{109,127,163}. Otros estudios³⁰⁵, confirman en su estudio que los niveles de PCr estado-estable tienen una interrelación lineal con intensidades de trabajo por encima del umbral de lactato, mientras que los cambios de pHi no tienen un impacto en la degradación de PCr. Recientemente se ha demostrado que¹⁶⁴, han demostrado que en ejercicios leves o moderados efectuados por debajo del umbral de lactato, los niveles de PCr están linealmente relacionados tanto con el VO_2 como con la potencia mecánica.

En estos protocolos puede considerarse la respuesta cinética de la PCr y Pi al inicio del ejercicio “fase *on*” como una medida cuantitativa de la capacidad oxidativa muscular.

Al comienzo del ejercicio muscular aeróbico el VO_2 incrementa para lograr un estado estable en 2-3 minutos. Esta fase se representa como déficit de O_2 y su magnitud está directamente relacionada con la intensidad del ejercicio. Durante este periodo, la hidrólisis de PCr contribuye sustancialmente a la resíntesis de PCr hasta que se adaptan el aporte de sangre y el metabolismo mitocondrial; en este momento la concentración de PCr deja de disminuir y alcanza un estado-estable¹¹³. En este estadio, la reserva de PCr se comporta como un lanzadera para el transporte de fosfatos de alta energía entre los lugares de producción y utilización de ATP, y el sistema de PCr-CK funciona como un tampón espacial¹⁶⁵.

Estudios experimentales sobre animales y distintos modelos de simulación y distintos estudios de ^{31}P -RMN han observado la proporcionalidad entre las cinéticas de PCr, consumo de oxígeno muscular y pulmonar^{128,163}. Así, como previamente se ha comentado (en esta introducción pag tal), se ha establecido que la cinética de la PCr, y la fase 2 del consumo de oxígeno pulmonar ocurrían a velocidades similares durante la transición al ejercicio y durante la recuperación de un ejercicio constante de moderada intensidad de pequeñas masas musculares, reflejando el consumo de oxígeno muscular. Durante intensidades de trabajo medias o moderadas por debajo del umbral, la contrapartida bioquímica del déficit de O_2 es la extensión de la hidrólisis de PCr^{78,166}.

Binzoni y Cerretelli propusieron en 1994, una aproximación para describir la energética del músculo esquelético durante la actividad aeróbica¹⁶⁷. Según esta teoría, cuando se impone una carga constante sobre el músculo, la hidrólisis de PCr se describe estrechamente ajustada a una función mono-exponencial; cuya velocidad, es proporcional al consumo de oxígeno en estado estable. En este modelo, el tiempo medio de la hidrólisis de la PCr (τ o constante de velocidad) al comienzo del ejercicio de carga constante es independiente de la carga; y los cambios en la carga impuesta, producen cambios en el consumo de oxígeno en estado estable linealmente relacionados con la concentración de PCr. Esta aproximación permite, además, describir sujetos en estado estable, caracterizados por el mismo consumo de oxígeno tisular y la misma carga de trabajo, pero con valores diferentes de concentración de PCr.

La participación del metabolismo glicolítico se valora por la disminución del pHi, ya que la formación de lactato por la glicólisis está asociada con la producción de protones¹⁶¹. Durante un ejercicio de alta intensidad pueden existir distintos niveles de acidosis en diferentes células del mismo músculo o en diferentes músculos o porciones de un músculo (ej: cabeza lateral y medial de gastrocnemius). El resultado puede ser un pico ancho de Pi asociado con la heterogeneidad celular o, en algunos casos, dos o más picos de Pi “fenómeno de Pi dividido”¹⁶⁸. Sin embargo, los datos sugieren que el Pi dividido es más probablemente el resultado de dos músculos adyacentes o partes de un músculo que responden de forma diferente al ejercicio¹⁶⁹.

6.3. OBSERVACIONES DURANTE LA RECUPERACION TRAS EL EJERCICIO

Una vez finalizado el ejercicio, la glicólisis cesa y la PCr usada durante la contracción muscular es resintetizada inmediatamente a través de la reacción de la CK desde el ATP sintetizado por la maquinaria mitocondrial. Diversos trabajos han demostrado la ausencia de resíntesis de PCr durante la recuperación en condiciones de isquemia de un ejercicio muscular^{170,171}; y su recuperación a niveles normales una vez restablecido el flujo sanguíneo. Por tanto, si como la literatura sugiere, la capacidad del metabolismo oxidativo es la influencia dominante en la velocidad de resíntesis de PCr en la fase temprana de la recuperación que sigue al ejercicio, su cinética ofrece información sobre la capacidad oxidativa del músculo esquelético y todo cambio en esta capacidad debería manifestarse en

un cambio correspondiente en la capacidad para resintetizar PCr¹⁷⁰. Varios estudios han mostrado que la cinética de la recuperación post-ejercicio de la PCr contiene información sobre la capacidad oxidativa muscular¹⁷²⁻¹⁷⁴.

El estudio de las cinéticas de recuperación de los metabolitos fosforilados y del pHi, una vez cesa la actividad muscular, ofrece también información sobre el estado energético del músculo. A diferencia de lo que ocurre durante el ejercicio, durante el periodo de recuperación los cambios en las concentraciones de los metabolitos son independientes de la masa muscular. Esta es una de las razones por las que resulta más fácil y práctico evaluar la bioenergética muscular durante la recuperación del ejercicio³².

6.3.1. La recuperación de PCr.

La resíntesis de PCr se observa durante la recuperación post-ejercicio, tan pronto como el músculo cesa de producir un trabajo mecánico¹⁶⁵.

El curso cinético de la recuperación de la PCr muscular ha sido comúnmente modelado usando una función matemática mono-exponencial y su “ τ ” constante de resíntesis de PCr, (τ PCr) aceptada como un índice de la capacidad oxidativa muscular independiente de la masa muscular y del trabajo^{70,175}. De hecho, la τ PCr está relacionada con el VO_2 en pico y con el $\text{VO}_{2\text{max}}$ ^{173,176}; está acortada en músculo humano entrenado en endurance como consecuencia de una mejoría en la función mitocondrial^{176,177}; presenta correlación con la actividad citrato sintetasa¹⁷²; y finalmente en estudios sobre ratas, se muestra independiente a un rango extenso de frecuencias de estimulación indicando una interrelación con la capacidad oxidativa muscular⁸³

Estas interrelaciones muestran que la τ PCr puede ser usada como una estimación directa de la capacidad oxidativa sólo cuando es medida tras ejercicios que originan limitados cambios de PCr con homeostasis de pHi. Sin embargo, la velocidad de resíntesis de PCr post-ejercicio de PCr está influenciada significativamente por el grado de acidosis que se desarrolla durante el mismo, ya que un cambio en el pHi afectará al equilibrio de la CK y así a la recuperación de la PCr^{170,178}; de manera que los valores de pHi deben ser tenidos en

cuenta cuando se comparan resultados de estudios en los que los valores de pHi al final del ejercicio son diferentes¹⁷⁹. La velocidad inicial de resíntesis de PCr medida durante los primeros segundos de recuperación está menos afectada por el pHi⁵⁵, y puede ser calculada usando el estado ejercicio-final como el primer punto de tiempo¹⁸⁰. En general los tiempos medios de recuperación de la PCr son muy variables en sujetos normales (0.5-1.2 min.)¹⁸¹.

6.3.2. La recuperación de ADP

La recuperación del ADP citoplasmático está menos afectado por las condiciones del pHi del final del ejercicio que la PCr. En sujetos control, el tiempo medio inicial de recuperación del ADP (los primeros 1.5 minutos) está poco afectado por el pHi o por la concentración de ADP al final del ejercicio¹⁷⁸. Después de su disminución inicial, la concentración de ADP puede disminuir por debajo de su valor de reposo, la magnitud de este hundimiento está relacionada con la acidosis inducida por el ejercicio^{178,182}. Además, la velocidad inicial de recuperación del ADP es una medida de comparación sensibles de la función mitocondrial tanto en músculo esquelético normal como alterado. Para poder calcular adecuadamente la constante de tiempo inicial, debe tenerse en cuenta el hundimiento inicial. Adecuadamente considerada su $ADP t_{1/2}$ es un índice sensible del metabolismo oxidativo y más deseable para la evaluación diagnóstica que la $PCr t_{1/2}$ ¹⁵⁶.

6.3.3. La recuperación del Pi

La cinética de recuperación del Pi no está del todo aclarada. Se han observado cinéticas más rápidas que las de PCr¹⁵⁶ y en algunos casos se ha referido una pérdida transitoria de la señal, atribuida por algunos autores a la redistribución del Pi en compartimentos indetectables por ³¹P-RMN, tales como la mitocondria^{179,183}, o bien asociada al incremento concomitante en PME, sugiriendo que el Pi queda atrapado en los intermediarios de la glicólisis¹⁸⁴. Los complejos factores que parecen determinar la recuperación de Pi han limitado su aplicación a la evaluación muscular en la enfermedad por ³¹P-RMN¹⁵⁶.

6.3.4. Recuperación del pHi

La recuperación del pHi tiene un curso más lento que la de PCr. Al comienzo de la recuperación, el pHi puede seguir descendiendo por la rápida repleción de la PCr, seguida por una recuperación lineal en alrededor de 4-5 minutos¹⁸⁴. La célula debe eliminar el exceso de protones producido desde su citoplasma; y esta carga se estima en alrededor del doble de la concentración de lactato al final del ejercicio¹⁸⁵. La salida de protones de la célula tiene dos componentes, uno pHi dependiente y otro pHi independiente¹⁸⁵. Por tanto, la cinética de recuperación del pHi tras el ejercicio parece mostrar un modelo complejo, determinando factores diferentes al metabolismo mitocondrial; su uso práctico para la evaluación clínica todavía debe ser investigado¹⁸⁶.

6.4. FACTORES QUE AFECTAN A LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La interpretación de los datos de un espectro o de una serie de espectros sucesivos de ³¹P-RMN, tanto en personas sanas como en pacientes, debe tomar en consideración múltiples factores intra y extramusculares que pueden afectar a las observaciones.

6.4.1. Tipo y naturaleza del ejercicio

Se debe considerar que las actividades relativas de las vías oxidativas y glicolíticas dependen de la intensidad y duración del ejercicio⁸⁶; el protocolo de ejercicio puede ser diseñado para acentuar una particular característica bioenergética. Los cambios metabólicos registrados dependen del tipo de ejercicio muscular que se efectúa en el interior del imán (isométrico, concéntrico, excéntrico)²⁷. La eficiencia mecanoquímica (utilización, por unidad de trabajo) de diferentes tipos de trabajo y las diferencias en el tipo de reclutamiento de fibras en las distintas formas de trabajo muscular, pueden explicar las discrepancias existentes entre algunas de las observaciones^{186,187}.

La situación más extrema es la isquemia. Si se impide el flujo sanguíneo muscular, la producción de ATP se produce a través de la PCr y la glicólisis; el aporte de sustratos, la

eliminación de metabolitos (incluidos los H^+) y la fosforilación oxidativa están anulados hasta que el flujo sanguíneo se restaura¹⁸⁸.

La heterogeneidad muscular influye en la interpretación de los datos metabólicos derivados de los espectros de ^{31}P -RMN¹⁸⁹. Las fuentes de heterogeneidad son: la variable contribución de las fibras musculares en reposo y activas al espectro, es decir, las variaciones en el reclutamiento y la fatiga entre las fibras; las características metabólicas variables de las fibras tipo I y tipo II; ya que la mayoría de los músculos humanos está compuesto por diferentes tipos de fibras musculares y la señal de ^{31}P -RMN representa un peso promediado de estas poblaciones de fibras.

El primer componente complica la interpretación de los datos adquiridos durante el ejercicio de contracción voluntaria en el hombre. Los incrementos en fuerza o en intensidad durante un ejercicio voluntario se acompañan de un incremento adicional en el reclutamiento en unidades motoras, así como en incrementos en la frecuencia de las unidades motoras. De ahí, que los cambios globales en los metabolitos musculares medidos en función de la sobrecarga puedan reflejar tanto cambios en el reclutamiento en las unidades motoras como eventos en las células individuales.

Este problema disminuye si se recurre a la estimulación directa del músculo o a la estimulación nerviosa; pero aún en este caso, algunas fibras pueden fatigarse antes que otras^{190,191}. Aún durante la estimulación no fatigante, las determinaciones globales ignoran el hecho de que los diferentes tipos de fibras tienen diferentes contenidos de metabolitos en reposo, diferentes actividades de ATPasa, y responden a diferentes velocidades al inicio de la estimulación. La eficacia bioquímica de tales protocolos es diferente a la lograda con la activación voluntaria^{191,192} y además son en general peor toleradas¹⁵⁶.

Las técnicas de localización y la mejora en los diseños de las bobinas han contribuido a eliminar el problema. Las técnicas de localización que combinan métodos de imagen y espectroscópicos, pueden usarse para estudiar la variabilidad metabólica dentro de un músculo, obteniendo mapas de regiones de músculo activo durante el ejercicio, con diferentes valores en PCr, Pi y pH¹⁹³. Estos estudios demuestran la posibilidad de localizar y

cuantificar la heterogeneidad de la respuesta metabólica al ejercicio determinada por modelos de reclutamiento variables¹⁶⁰.

6.4.2. Heterogeneidad del tipo de fibras musculares

Se ha investigado también la heterogeneidad derivada de las características metabólicas de los diferentes tipos de fibras musculares en reposo¹⁹⁴⁻¹⁹⁷ a través del modelo de respuesta al ejercicio del Pi y PCr y de la cinética de su recuperación tras el ejercicio⁴⁵. Las diferencias en el pHi de los diferentes tipos de fibras al ejercicio modificaría la frecuencia de resonancia del Pi, apareciendo el pico “dividido” y asociado a los diferentes tipos de fibras^{168,198,199}. Es decir, estos picos representarían las condiciones metabólicas de las fibras tipo I con alto pHi y las fibras tipo II de pHi bajo¹⁰¹. Estos autores usaron también la recuperación de Pi como índice del metabolismo oxidativo, registrando velocidades de recuperación más rápidas en las fibras tipo I que en las fibras tipo II. Las cinéticas de recuperación de estos dos picos de Pi difieren dependiendo no sólo de su pHi, sino también del tipo de ejercicio^{200,201}

No hay, sin embargo, un acuerdo general sobre el significado de la “división del Pi”. A favor de la heterogeneidad debida a los tipos de fibras musculares, trabajos como el de Mizuno²⁰², en los que se bloquea farmacológicamente el reclutamiento de fibras tipo I, demuestra la desaparición del doble pico. Además, las fibras inactivas no deberían producir pico visible de Pi durante el ejercicio. Otros estudios apoyan la heterogeneidad dentro de la fibra muscular^{29,203-205} obteniendo valores diferentes de Pi/PCr y similares de pHi en sujetos entrenados en resistencia, frente a velocistas y sedentarios²⁹, lo que habla en favor de la distinta composición de las fibras en las diferentes poblaciones. Otros datos experimentales apuntan como mecanismo más probable, la inclusión de grandes volúmenes de diferentes grupos musculares trabajando a diferentes grados.^{169,200}

La actividad o el entrenamiento pueden influir en la composición del tipo de fibras, pero hay una determinación genética primaria. Estudios en animales han sugerido que el nivel de PCr y de PCr/Pi son más altos en músculos con una alta proporción de fibras tipo II^{28,97,206}. En humanos, la mayoría de los músculos son mixtos y hay sólo un 5-10% de variación en la proporción de los tipos de fibras I y II. Hay estudios en los que se encontró una correlación

entre la composición del tipo de fibras y las observaciones de ^{31}P -RMN en reposo²⁰⁷, mientras que otros mostraron una correlación positiva entre la PCr/ATP, Pi/ATP, (PCr + Pi)/ATP (pero no PCr/Pi) y el porcentaje de fibras tipo II en biopsias musculares²⁰⁶⁻²⁰⁸.

6.4.3. Normalización del trabajo

Uno de los principales desafíos en la evaluación de los datos de ejercicios de ^{31}P -RMN es determinar como interpretar los datos en relación al trabajo efectuado por un individuo en ese particular protocolo de ejercicio. La misma cantidad de trabajo (o potencia) efectuada durante un test ^{31}P -RMN puede imponer una muy diferente exigencia metabólica sobre músculos de diferentes personas, especialmente si existe debilidad muscular (ej: atrofia muscular, enfermedad neuromuscular)^{156,209,210}.

Se han utilizado muy diferentes métodos de normalización fisiológica del trabajo efectuado: en unos casos se estima el trabajo en relación a la fuerza generada durante la contracción muscular; y en otros se considera el trabajo efectuado en relación a la masa muscular medida directamente del área de sección transversa por ^1H -RMN o de la circunferencia del miembro^{211,212}.

Puede estimarse el trabajo en relación a la fuerza generada durante la máxima contracción voluntaria (MCV)²¹¹⁻²¹³. Es un parámetro relativamente fácil de medir para normalizar el porcentaje de carga del ejercicio y asume que la magnitud de los cambios metabólicos registrados durante el ejercicio están relacionados a la capacidad de producción de fuerza²¹². Todas las fibras musculares son activadas por el esfuerzo voluntario pero es imprescindible la buena colaboración del sujeto en su determinación. Las mediciones de MCV generalmente no pueden efectuarse justo antes de una investigación metabólica para impedir los efectos potenciales de los cambios inducidos por el ejercicio. Aunque extensamente utilizado, no parece haber sido analizado en términos de reducción de la variabilidad entre sujetos, y así es expresado en la literatura²¹⁴.

Los test de ejercicio “incremental” o en “rampa”, utilizando una resistencia que aumenta progresivamente hasta que el sujeto no puede mantener el ritmo impuesto o elevar la carga,

están diseñados para ofrecer un número de datos individuales sobre un extenso rango de niveles de ejercicio y permiten buscar la interrelación entre variables metabólicas²¹⁵⁻²¹⁷. A niveles bajos de potencia, cada nivel representa un ejercicio en estado estable; pero a altos niveles de trabajo no se consiguen las condiciones de trabajo estable.

Otros métodos tratan la normalización de las variables metabólicas sobre la base de medidas antropométricas tales como el peso, altura, índice de masa corporal (IMC/BMI), masa magra corporal (LBM)^{218,219}, área de sección transversa muscular^{220,221} y el volumen muscular^{209,215,216}. Globalmente, estos métodos asumen que la densidad mitocondrial del músculo y el metabolismo intermediario que lo soporta son proporcionales a las variables antropométricas. También presupone que los músculos activados pueden ser adecuadamente identificados, consistentemente estimulados, y que ni el flujo sanguíneo o el aporte de oxígeno limitan el flujo metabólico submáximo, lo que supone una seria limitación en la exploración muscular ante determinadas circunstancias (miopatías, tratamientos con drogas, o condiciones ligadas genéticamente)²²².

6.4.4. El entrenamiento y el desacondicionamiento físico

Se ha utilizado la ³¹P-RMN para estudiar las diferencias en el metabolismo muscular, particularmente del metabolismo oxidativo, entre atletas y no atletas. Las diferencias en los parámetros metabólicos en sujetos entrenados han sido demostradas en reposo, aunque no se ha aclarado si tales diferencias son atribuidas al entrenamiento o hay una predisposición genética como ya se ha comentado²⁸.

Parece demostrarse un menor descenso del pHi, una mayor pendiente entre la potencia y el Pi/PCr, y una más rápida recuperación de la PCr en atletas entrenados en resistencia frente a sujetos sedentarios. Estos datos apoyan la hipótesis de una mayor capacidad oxidativa en los atletas^{176,223-225} siguiendo un ejercicio moderado.

Las diferencias metabólicas se muestran también al comparar atletas de resistencia frente a atletas de potencia (por ejemplo corredores de larga distancia frente a esprinters)^{29,34,37,226,227}. En estos casos se constata una menor depleción de PCr, un pHi más

alto al final del ejercicio y cinéticas más rápidas en la recuperación de PCr en los entrenados en resistencia

Sin embargo, cuando el ejercicio que se efectúa es de más alta intensidad y el pH_i disminuye, los resultados son más conflictivos por la posible influencia de esta disminución de pH_i sobre la velocidad de recuperación de la PCr^{170,223} y por la gran variación entre los individuos en la constante de velocidad de la recuperación de la PCr²²⁸. El hecho de que esta mejor capacidad oxidativa muscular se haya podido demostrar en músculos no específicamente entrenados para el evento atlético, ha sugerido que los resultados ofrecen la evidencia de un componente genético en la performance atlética²²⁹.

La reducida actividad física origina un desacondicionamiento físico, común tanto en sujetos sanos que llevan un estilo de vida sedentario como en pacientes con enfermedades crónicas, que puede tener efectos adversos sobre la estructura muscular y el metabolismo muscular que pudieran ser observados a través de ³¹P-RMN. La ³¹P-RMN puede evaluar este conjunto de efectos sobre el metabolismo energético muscular.

Escasamente se ha estudiado el impacto de las actividades de la vida diaria sobre el estado bioenergético muscular. Se ha referido una mejor capacidad oxidativa al comparar el perfil energético al ejercicio de brazos dominantes frente a no dominantes^{230,231}; y más recientemente durante la recuperación de ejercicios en isquemia^{232,233}.

El renovado interés por el efecto de las actividades de la vida diaria sobre el metabolismo muscular es reflejado por los resultados de algunos autores²³³, y en las recomendaciones sobre datos preliminares¹⁵⁶, que apuntan la necesidad de la evaluación rutinaria de la actividad física y la normalización del trabajo a la capacidad individual, como factores importantes responsables de la gran variabilidad en los controles normales; hecho por otra parte de indudable interés para los pacientes que siguen programas terapéuticos de rehabilitación.

6.4.5. Edad y sexo

No se muestran resultados concluyentes sobre el efecto de la edad sobre el metabolismo oxidativo. Diferentes estudios de ^{31}P -RMN han referido una limitación del metabolismo anaeróbico en los niños²³⁴⁻²³⁷. Estudios comparativos con adultos han demostrado una mayor dependencia del metabolismo glicolítico en el grupo de adultos (20-42 años), reflejado por valores de pHi menores y Pi/PCr mayores al final del ejercicio, respecto a los encontrados en niños (7-10 años) en las mismas condiciones²³⁸, y sin embargo los ancianos se mostraron más dependientes del metabolismo anaeróbico que el resto de los grupos²³⁵. Aunque las cinéticas de recuperación diferenciaron a los niños de los adultos, éstas se mantuvieron estables hasta alrededor de los 70 años en que se enlentecieron^{235,239-241}.

También se han documentado reducciones en la actividad de los enzimas oxidativos musculares²⁴²⁻²⁴⁴ que explicaron esta disminución en la capacidad oxidativa en la población de ancianos. Otros estudios sugieren que la edad no afecta el metabolismo muscular^{198,216,243,245}; la discrepancia entre resultados puede estar relacionada con otros sucesos relacionados con la edad, como el desacondicionamiento y la pérdida de fuerza^{41,135,241}.

Se acepta comúnmente que los varones exhiben una mayor fuerza y capacidad muscular que las mujeres²⁴⁶, y aunque estas diferencias pueden ser explicadas parcialmente en términos de área de sección transversa muscular y entrenamiento, las posibles causas metabólicas subyacentes no parecen claras. Se han mostrado diferencias en la capacidad aeróbica entre varones y mujeres durante la contracción muscular^{246,247} en relación con diferencias cuantitativas en la composición de fibras. Estudios de actividades enzimáticas sobre muestras de biopsia indican contribuciones relativas similares del metabolismo oxidativo²⁴⁸ más altas en mujeres, mientras que la capacidad glicolítica fue más pronunciada en varones. La técnica de ^{31}P -RMN ha sido utilizada en muy escasas ocasiones para estudiar las diferencias energéticas musculares entre sexos, pero no se han demostrado diferencias en el metabolismo aeróbico con relación al sexo²⁴⁶.

6.4.6. Nutrición e hidratación

Varios estudios han mostrado que el suplemento en creatina estimula la fosforilación oxidativa²², durante el ejercicio, y los niveles de PCr al reposo^{24,249,250} y se acompaña de una mejor función muscular. Los resultados parecen sugerir²³ que las mejorías en el rendimiento muscular son debidas a la mejoría en la resíntesis de PCr durante el ejercicio como consecuencia de una mayor disponibilidad de PCr

En la malnutrición crónica, los niveles de PCr/ATP están reducidos²⁵¹ y el ayuno parece alterar la función muscular pero su consecuencia sobre los parámetros energéticos musculares no es claro²⁵². La deshidratación disminuye la resistencia muscular sin producir cambios paralelos en los metabolitos musculares²⁵³.

En pacientes dializados crónicamente la administración de aminoácidos parece mejorar los índices del metabolismo oxidativo²⁵⁴, lo que sugiere que la malnutrición proteica puede afectar en el estado de enfermedad.

6.4.7. Fatiga muscular

Los mecanismos que llevan a la fatiga muscular son complejos y, probablemente, difieren según las circunstancias. La ³¹P-RMN puede ser de utilidad en la evaluación de los aspectos metabólicos relacionados con la fatiga muscular. En los primeros estudios de ³¹P-RMN se observó que el ejercicio intenso asociaba una depleción de la PCr > 80% y una acidosis severa^{6.2}, junto con una depleción de ATP²⁵⁵, y se asoció la severa depleción metabólica con la fatiga. La pérdida de ATP no fue referida como señal metabólica de fatiga pues permanecía sin cambios en muchas condiciones de ejercicio.

Otros mecanismos son sugeridos como la depleción de la PCr como el aumento en [H⁺]²⁵⁶. Sin embargo, no parecían los únicos; los estudios combinados de ³¹P-RMN, electromiografía, y fuerza muscular durante la fatiga muscular y la recuperación mostraron una alteración en la excitación-contracción muscular²⁵⁷; y por tanto la existencia de un componente no metabólico de fatiga asociado a la alteración excitación-contracción²⁵⁸.

El H_2PO_4^- ha sido el metabolito más estrechamente relacionado a la máxima capacidad de generación de fuerza, no sólo durante el ejercicio sin también durante la fase de recuperación junto con la falta de disponibilidad de ATP²⁰; sin embargo su correlación con valores electromiográficos sugieren la participación de factores no metabólicos en el desarrollo de la fatiga^{259,260}.

Los estudios metabólicos de fatiga muestran una marcada variabilidad interindividual y una dependencia respecto al protocolo en muchos estudios. Los fosfatos de alta y baja energía y el pHi se correlacionarían con la fatiga en algunas circunstancias pero no en otras¹⁵⁶.

6.4.8. Disponibilidad del oxígeno

Durante el ejercicio, la disponibilidad de oxígeno ha sido considerada tanto como moduladora de la bioenergética muscular como determinante de la máxima capacidad oxidativa²⁶¹. En sujetos sanos, la reducción en el oxígeno inspirado lleva a un descenso en PCr y pHi para una determinada intensidad de ejercicio comparado con condiciones de normoxia²⁶² apareciendo el agotamiento de forma más temprana cuando se inspiró aire a una fracción de oxígeno menor.

La disponibilidad de oxígeno es de gran importancia en la recuperación de PCr, alterándose su cinética en aquellos procesos patológicos que se ha producido una disminución del contenido o de la función mitocondrial, y por tanto de la capacidad oxidativa^{89,174,261}.

6.5. UTILIDAD DE LA ^{31}P -RMN EN LAS ALTERACIONES MUSCULARES

La capacidad mostrada por la técnica de ^{31}P -RMN en la valoración del metabolismo energético muscular ha extendido su campo de aplicación desde la investigación hacia el ámbito deportivo; y cada vez en mayor proporción ha demostrado su utilidad clínica.

En muchas formas de miopatía primaria la ^{31}P -RMN va a ser capaz de identificar y evaluar de forma precisa la alteración del metabolismo aeróbico y/o anaeróbico^{31,32,156,160}; de ahí la creciente aplicación de la ^{31}P -RMN como herramienta diagnóstica y del seguimiento del

curso de la enfermedad muscular primaria. En otros casos una afectación muscular, incluso no específica, va a ser secundaria a la afectación de otros órganos o sistemas (insuficiencia cardíaca, renal , tiroidea..); en muchos casos, además, la repercusión de una falta de actividad física se va a añadir a los procesos anteriores. La ^{31}P -RMN puede ser útil en la monitorización de la eficacia de nuevas terapias especialmente las que afectan al metabolismo oxidativo de forma primaria o secundaria.

6.5.1. Miopatías primarias

En las miopatías mitocondriales el espectro muscular se encuentra alterado en reposo, con un alto Pi/PCr que aunque no específico ha sido considerado como un marcador sensible de enfermedad y que puede ser utilizado en la evolución y en el seguimiento de los pacientes en terapias experimentales y en los niños cuya debilidad impide la realización de un ejercicio en el imán¹⁵⁶.

Durante el ejercicio presentan una más rápida caída en el estado energético muscular en relación a la limitación en sus capacidades oxidativas, y la recuperación de la PCr se ve también afectada.

Los músculos con alteraciones de la glicólisis pierden su capacidad para producir ácido láctico; así, los pacientes con enfermedad de McArdle muestran un incremento paradójico en el pH_i muscular^{10,156} e intolerancia al esfuerzo.

Las distrofinopatías presentan también alteraciones en los espectros en reposo, asociados posiblemente a una disfunción mitocondrial secundaria y a un aumento progresivo en el pico de PDE posiblemente secundario a la rotura de la membrana²⁶³. También se han detectado alteraciones en los espectros de ^{31}P -RMN en otros tipos de miopatías como las inflamatorias: miositis de cuerpos de inclusión, dermatomiositis y polimiositis²¹⁹.

Más recientemente, la ^{31}P -RMN se ha utilizado como medida objetiva de la respuesta al tratamiento en ensayos terapéuticos¹⁵⁶. Se han detectado mejorías en PCr/Pi en reposo y en la velocidad de recuperación de PCr/Pi tras el ejercicio moderado tras la administración de

vitamina K₃ y C en pacientes con déficit severo de complejo III de la cadena respiratoria; y en la aplicación de otros tratamientos, como la administración de riboflavina y nicotinamida, coenzima Q, dicloroacetato y esteroides con mejorías funcionales relacionadas con la mayor tolerancia al esfuerzo¹⁵⁶.

La sospecha de que en muchos casos de miopatía mitocondrial existe un defecto de desacondicionamiento asociado al daño primario, ha llevado a plantear programas terapéuticos de entrenamiento aeróbico²⁶⁴. La ³¹P-RMN ha demostrado una más rápida recuperación del t_{1/2} ADP de alrededor del 60% pero sin cambios en PCr/Pi en reposo; este efecto de entrenamiento ha sido también observado en otras miopatías²⁶⁵

6.5.2. Miopatías secundarias

Es frecuente que enfermedades sistémicas o de otros órganos o sistemas afecten al metabolismo muscular. Es el caso de las miopatías secundarias a hipotiroidismo, que originan un cambio en las características del tipo de fibras (atrofia de fibras tipo II) y afectación mitocondrial secundaria con alteración del metabolismo oxidativo, que puede ser revertido con hormona tiroidea; y la disminución del metabolismo oxidativo en pacientes con fallo renal crónico tratados con hemodiálisis^{32,156}.

Se han estudiado las posibles alteraciones metabólicas en enfermedades del sistema nervioso central como la esclerosis múltiple; o la paraparesia espástica¹⁶⁰, sugiriendo en estos pacientes una disminución de la capacidad oxidativa y un efecto de desacondicionamiento.

Otros procesos que pueden afectar al músculo han sido estudiados por ³¹P-RMN y revisados en la literatura: La hipertermia maligna, el alcoholismo con rabdomiolisis asociada, fibromialgia, síndrome de fatiga crónica, o la monitorización de los efectos musculares de agentes antitumorales que, bien por su efectividad, mecanismo de acción o efectos tóxicos secundarios, pueden afectar el metabolismo muscular^{32,156,160}.

6.5.3. Procesos con limitada oxigenación tisular

La intolerancia al ejercicio es la limitación primaria de los pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva. Entre los factores considerados en su desarrollo se encuentran el desacondicionamiento físico, la limitación del flujo sanguíneo, los cambios en los tipos de fibras y la atrofia muscular¹⁶⁰. Se ha sugerido que los pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva podrían desarrollar cambios metabólicos intrínsecos³² relacionados con la alteración del metabolismo muscular; pero es necesario clarificar la interrelación entre la energética muscular y los defectos moleculares subyacentes. Se ha prestado mucha atención al efecto del entrenamiento sobre la energética muscular en estos pacientes. Los resultados indican reversión parcial de las alteraciones metabólicas en unos caso y en otros incremento en la capacidad de ejercicio y en el volumen muscular sin cambios metabólicos^{32,160}.

La ³¹P-RMN puede detectar las alteraciones metabólicas musculares en pacientes con enfermedad vascular periférica, secundarias a la disminución de la síntesis oxidativa de ATP por el aporte reducido de oxígeno y un incremento compensatorio en la síntesis de ATP por la glicólisis anaeróbica y una mayor producción de ácido láctico²⁶⁶. Los resultados parecen explicarse por la gran disminución en la masa muscular efectiva debida a la combinación de atrofia y la disminución de la eficiencia metabólica²⁶⁶.

Los pacientes con Insuficiencia respiratoria crónica presentan también una intolerancia al esfuerzo. La hipoxemia, el tratamiento farmacológico y el desacondicionamiento contribuyen potencialmente a la disfunción muscular. Durante el ejercicio se observan los cambios metabólicos relacionados con una menor capacidad oxidativa y una mayor participación de la glicólisis^{267,268}. La administración de oxígeno suplementario^{268,269} y el entrenamiento²⁷⁰ mejoran todos los parámetros metabólicos.

HIPOTESIS Y OBJETIVOS

7. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

Después de la revisión bibliográfica sobre la aplicación de la técnica ^{31}P -RMN a la bioenergética muscular hemos comprobado la importancia de la información aportada por la misma pues permite caracterizar el perfil metabólico muscular en distintas situaciones clínicas.

Sin restar valor a las aportaciones realizadas por la técnica, es necesario también tener en cuenta sus límites y el conjunto de circunstancias que pueden influir en la variabilidad de las determinaciones.

La literatura considera que una de las fuentes de variabilidad es el estado de condición física del individuo. Un mejor acondicionamiento físico podría condicionar un perfil metabólico diferente al de los sujetos sedentarios y por tanto debería ser un factor a considerar cuando se estudian los distintos individuos, para evaluar el estado muscular normal de los sujetos sanos.

La actividad física modifica e influye en la bioenergética del músculo y en el comportamiento de éste durante el ejercicio y la recuperación. Una mejor capacidad aeróbica podrá ser objetivada a través de la técnica de ^{31}P -RMN.

Para ello se han examinado diferentes procedimientos de estudio cuya aplicación se realiza en diferentes condiciones de ejercicio y la recuperación del mismo.

Por ello la hipótesis que planteamos tiene en cuenta estas situaciones, y así entendemos, que se obtendrán diferencias en los parámetros bioenergéticos musculares, observables y cuantificables, entre dos grupos de individuos; uno considerado sedentario o de baja actividad física y otro con un grado de actividad física moderada-alta.

Derivada de la hipótesis anterior, estimamos que las diferencias nos permitirán considerar la actividad física como elemento a observar en la evaluación previa a todos los programas de acondicionamiento físico.

Basándonos en estos planteamientos, los objetivos propuestos de estudio son los siguientes:

- Demostrar con ^{31}P -RMN la influencia de la actividad física sobre el perfil bioenergético muscular.
- Valorar la respuesta adaptativa muscular al ejercicio físico.
- Observar las respuestas musculares en diferentes tipos de ejercicio progresivo (máximo) y constante (submáximo).
- Observar las respuestas musculares durante la recuperación de los dos tipos de ejercicio máximo y submáximo.

MATERIAL Y MÉTODOS

8. MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio fue realizado en las instalaciones del Laboratorio de Biofísica de la Universidad de Nancy (Francia) dirigida por el Dr. Escanyé, en colaboración con el Laboratorio de Fisiología del Ejercicio Muscular dependiente de la Unidad de Fisiopatología Respiratoria, Unidad 14 del Instituto Nacional de la Salud y de la Investigación Médica-Francia (INSERM), dirigido por el Dr. Giménez.

Para su desarrollo se seleccionó una muestra de sujetos sanos, que dadas las características del sistema pudieron efectuar un trabajo o ejercicio. Los sujetos realizaron un ejercicio de flexión plantar sobre un ergómetro adaptado a un espectrómetro en dos etapas sucesivas.

8.1. SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Para la realización de este trabajo se seleccionaron un total de 35 sujetos, 23 varones y 12 mujeres, de edades comprendidas entre 26 y 53 años. Los participantes en el estudio eran miembros del equipo de Fisiopatología Respiratoria de la Unidad 14 del INSERM, estudiantes y deportistas. Todos ellos firmaron el consentimiento informado para participar en el estudio.

Para cada sujeto se realizó una historia clínica, un examen clínico y la evaluación de la condición física.

En la historia clínica se recogieron las características físicas individuales así como todos aquellos antecedentes médicos y/o quirúrgicos que pudieran influir en los resultados o contraindicar la realización de la prueba. Se cumplimentó un cuestionario estándar, cuyo modelo se adjunta (APENCICE I), que incluía los siguientes datos:

- Características antropométricas individuales: talla, peso, perímetro de la pantorrilla.
- Edad y sexo.
- Hábito tabáquico.

- Tratamientos médicos farmacológicos (Benzodiacepan, barbitúricos, ansiolíticos, broncodilatadores, diuréticos, β -bloqueantes...).
- Interrogatorio: Sobre los antecedentes médicos y quirúrgicos:
 1. *Pulmonares*: disnea de esfuerzo, tos y expectoración crónica, asma, exposición profesional u otra patología pulmonar.
 2. *Cardiovasculares* : hipertensión arterial sistémica, valvulopatías, insuficiencia cardíaca, alteraciones del ritmo, afectación coronaria y antecedentes de dolor torácico de naturaleza no filiada, arteriopatía ocliterante en miembros inferiores, insuficiencia venosa,
 3. *Trastornos hematológicos*: anemias.
 4. *Alteraciones endocrino–metabólicas*: hiperglucemia, intolerancia a la glucosa, glucogenosis, hiper e hipotiroidismo.
 5. *Renales*: Insuficiencia renal.
 6. *Afecciones neurológicas y neuromusculares*: miopatías.
 7. *Aparato locomotor*: ciatalgias, tenopatías, fracturas recientes, y otras patologías referentes al miembro inferior en estudio.
- Procedimientos médicos y quirúrgicos: marcapasos, material de osteosíntesis.

Tras el interrogatorio se realizó un examen clínico básico respiratorio y cardiovascular; una exploración funcional respiratoria en reposo con determinación de la capacidad vital forzada (CVF), volumen espiratorio forzado en primer segundo (VEF1), índice de Tiffeneau, y una prueba de esfuerzo progresiva (técnica habitual del Laboratorio de Fisiopatología Respiratoria) con determinación del VO_{2max} , valoración de patrones respiratorios y control del electrocardiograma (ECG), de la tensión arterial (TA), de la frecuencia cardíaca (FC) y de saturación arterial de oxígeno (SaO_2), con el fin de determinar la normalidad de los sujetos a estudio y su correcta adaptación al esfuerzo. (APEDICE II)

Evaluación de la actividad física. Se valoraron dos aspectos: el nivel de actividad física expresada en horas/semana; y el tipo de actividad física practicada, considerando no sólo la actividad físicodeportiva sino también la asociada a las actividades de la vida diaria (AVD). Las actividades físicodeportivas se clasificaron en actividades de resistencia (endurance) o de potencia. Así mismo, se consideró si la actividad se realizaba preferentemente con los brazos o las piernas; y todas se valoraron en función de los equivalentes energéticos o MET.

1MET representa el gasto de energía en reposo, indicativo del consumo metabólico basal o VO_2 (1MET = 3.5 ml O_2 /Kg peso corporal/minuto).

Se consideraron como actividades de la vida diaria (AVD), las actividades habituales relacionadas con el hogar, el transporte al trabajo, consideradas de baja intensidad (< 4METs).

Se consideraron como actividades físicodeportivas (AFD) las actividades de tiempo libre de mayor intensidad (>6METs)

Para la estimación del coste energético de las actividades del sujeto se utiliza la escala de Ainsworth¹⁴³

En función de la condición “tipo de actividad” los sujetos fueron agrupados en:

1. La actividad realizada por el sujeto corresponde a las AVD.
2. El sujeto realiza además de las AVD, una AFD ocasional que no involucra específicamente a las piernas
3. El sujeto realiza además de las AVD, una AFD regular que no involucra específicamente a las piernas (ej: judo, frontón, tenis)
4. El sujeto realiza además de las AVD, una actividad físicodeportiva regular de resistencia que involucra específicamente las extremidades inferiores (ej: jogging, esquí de fondo, ciclismo, etc.)

En cuanto al nivel de actividad física en número de horas a la semana (h/s) se establecieron tres grupos:

1. Menos de 3 h/s: Incluyó a los sujetos que realizaban las AVD y alguna actividad física ocasional (caminar)
2. Entre 3 y 6 h/s: Incluyó a los sujetos que realizaban las AVD y actividad físicodeportiva regular de 1-2 horas a la semana.
3. De más de 6 h/s: Incluyó atletas y sujetos que realizaban ejercicio regular o deporte recreativo con entrenamiento durante más de 3 h/s.

Se recogieron los datos de evaluación física sobre cuestionario (APENDICE III)

El cuestionario (APENDICE I) se complementó con un apartado adicional en el que se incluían cuestiones relacionadas con el procedimiento de estudio:

- Motivo de finalización del ejercicio: Imposibilidad de continuar con el esfuerzo solicitado, incomodidad de la postura, dolorimiento de la región glútea, falta de colaboración al esfuerzo, etc.
- Dificultad subjetiva apreciada en la ejecución del protocolo: Fue valorada con una escala puntuada de 1 a 10 con el fin de asegurar una mejor cooperación de los mismos.
- Incidencias durante el desarrollo de las pruebas
- Consentimiento informado.

8.1.1. Criterios de inclusión

Se incluyeron en el protocolo experimental aquellos sujetos aparentemente sanos que cumplieran los siguientes requisitos:

- Edad comprendida entre los 20 y los 55 años.

- Sin antecedentes médicos de patología crónica en los diferentes órganos y sistemas, que pudieran influir sobre el metabolismo muscular.
- Resultados normales en la exploración clínica.
- Resultados normales en la exploración funcional y en la adaptación al esfuerzo.
- El criterio de inclusión sobre la condición de “tipo de actividad física” incluyó la valoración de las actividades que involucraban las extremidades inferiores, ya que las determinaciones metabólicas de ^{31}P - RMN se realizaron sobre los músculos de la pantorrilla. Se incluyeron los siguientes tipos:

Tipo 1: AVD sin especificidad sobre extremidades inferiores.

Tipo 4: AVD y actividad deportiva regular de resistencia sobre extremidades inferiores.

- El criterio de inclusión sobre la condición de “nivel de actividad física” incluyó a los sujetos cuya actividad física realizada correspondía a los niveles de intensidad:

Nivel 1, de 3 a 6 h/s.

Nivel 3, de más de 6 h/s.

8.1.2. Criterios de exclusión

1. Sujetos que tras el interrogatorio y/o examen clínico no cumplieron con los criterios de normalidad clínica establecidos, y que pudieron hacer sospechar en una respuesta anómala cardiovascular o metabólica al esfuerzo.
2. Resultados anómalos en la prueba de esfuerzo: hipertensión sistólica, respuesta alterada TA al esfuerzo, anomalías en el ECG.
3. Sujetos sometidos a tratamientos médicos.
4. Hábito tabáquico.

5. Contraindicaciones ligadas a la utilización de campos magnéticos intensos: marcapasos, material osteosíntesis.
6. Sujetos incluidos en la categoría 2 de “nivel de actividad física”.
7. Sujetos incluidos en las categorías 2 y 3 de “tipo de actividad física”.
8. Limitaciones impuestas por el propio imán (dimensiones internas, diámetro interior); que limitaron el estudio en personas con un importante volumen de piernas, ó con una longitud excesiva de sus extremidades inferiores respecto a las dimensiones del espectrómetro.

8.1.3. Grupos de estudio

De los 35 sujetos seleccionados se excluyeron un total de ocho por los siguientes motivos:

- Hipertensión arterial en reposo (1)
- Intolerancia al esfuerzo de etiología no filiada (1)
- Habito tabáquico (2)
- Volumen excesivo de la extremidad inferior (1)
- Actividad física clasificada en nivel tipo 2 (3)

La muestra definitiva incluyó a 27 sujetos, 19 varones y 8 mujeres, de los que se muestran los datos recogidos de edad, talla, peso, perímetro máximo de la pantorrilla e índice de masa corporal.(Tabla 8.1)

Tabla 8.1. Características de los participantes en el estudio.

		EDAD	TALLA	PESO	PERIM	IMC
N	Válidos	27	27	27	27	27
	Perdidos	0	0	0	0	0
Media		37,2963	170,8148	68,7037	37,9704	23,43259
Error típ. De la media		1,52268	1,63999	2,12757	,42200	,493813
Desv. típ.		7,91209	8,52163	11,05516	2,19279	2,565930
Mínimo		22,00	154,00	52,00	35,00	19,720
Máximo		53,00	184,00	88,00	41,60	31,180

Teniendo en cuenta el “tipo” y el “nivel” de actividad física, se dividió la muestra en dos grupos:

- Grupo FA, físicamente activos: Integrado por 13 sujetos de tipo 4 y nivel 3.
- Grupo C, sedentarios o grupo control. Integrado por 14 sujetos de tipo 1 y nivel 1.

8.2. MATERIALES

8.2.1. Espectrómetro de ^{31}P -RMN

Los estudios se realizaron en un espectrómetro experimental tipo Brüker Biospec BNT- 100. Este espectrómetro multinuclear equipado con un imán horizontal superconductor de 40 cm de diámetro que desarrolla un campo magnético de 2.4 Teslas. (Fig. 8.1)

Una bobina de superficie de 5 cm de diámetro, permitió la emisión y recogida de la señal de radiofrecuencia; conectada por un doble circuito que posibilitaba la adquisición tanto del hidrógeno (protón, ^1H) como del fósforo (^{31}P). La frecuencia de resonancia del hidrógeno, de 100,425 MHz se utilizó para calibrar la uniformidad y la homogeneidad del campo magnético aplicado. Los espectros de ^{31}P eran obtenidos a 40.65 MHz, que corresponden a la frecuencia de resonancia del fósforo en un campo magnético de 2.4 Teslas.

La información espectral se obtuvo con pulsos de radiofrecuencia de $70\ \mu\text{s}$ (70°) aplicados a intervalos de 1s; cada espectro se obtuvo por la acumulación de FIDs (20 rastreos) para mejorar la relación señal/ruido, que permitió la obtención de un espectro cada 30 s. El primer espectro se obtuvo en reposo con la suma de 240 FIDs. En tanto que la frecuencia de los pulsos no permite la obtención de espectros relajados, se aplicaron diversos factores de corrección de relajación diferencial (factor de saturación) para cada pico: 0,225 -PCr; 0,264 - Pi; 0,284 - ATP- α ; 0,241 - ATP- β ; 0,256 - ATP- γ ; 0,244 - PME; 0,317- PDE.

El espectro final se calculó aplicando un algoritmo de convolución diferencial de 200Hz y una clásica transformada de Fourier. Se calculó el área bajo cada espectro para el análisis cuantitativo de los metabolitos fosforados. Se hicieron determinaciones seriadas cada 30 s durante el periodo de ejercicio y durante la recuperación

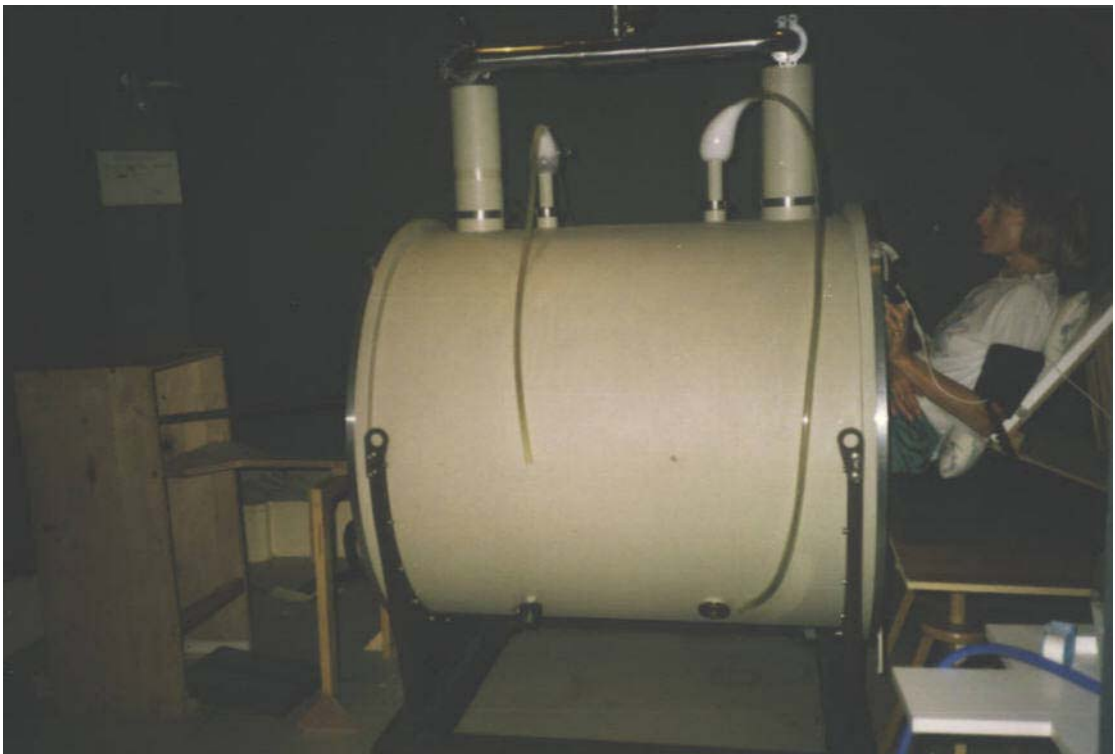


Figura 8.1 Espectrómetro Bruker Biospec BNT- 100

8.2.2. Ergómetro

El ergómetro empleado se construyó en el laboratorio de Biofísica para ser utilizado con el espectrómetro Brüker Biospec BNT 100, y ha sido utilizado en diferentes trabajos experimentales²⁷¹⁻²⁷³. Para su construcción se utilizaron materiales no metálicos para evitar así flujos de corriente. (Fig. 8.2)

Consta de un pedal montado sobre una plancha de madera, adaptada al tamaño y forma del imán; ligeramente elevado y con un recorrido lateral de 6 cm que permitía ser utilizado por ambas piernas. El eje de giro del pedal permitía la alineación con el eje de giro del tobillo, utilizando suplementos (plantillas) de espesor variable. Esta capacidad de ajuste permite obtener una correcta carga fisiológica sobre la articulación del tobillo, y mantener el músculo en una posición estable durante la captación por RMN

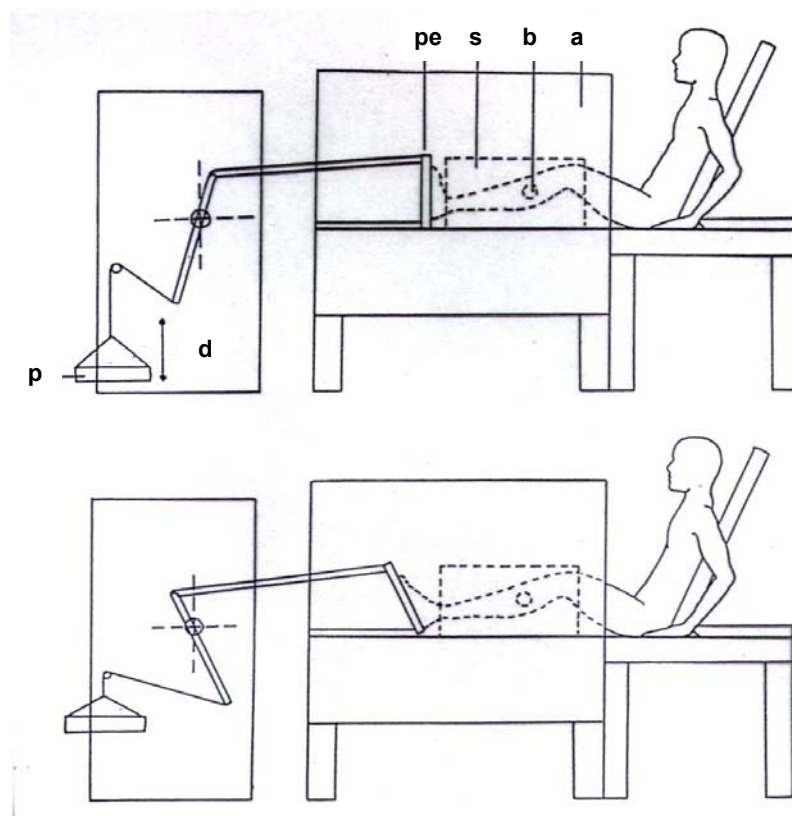


Figura 8.2 Ergómetro

a: imán, **b:** bobina de 5cmt, **s:** soporte de la bobina, **pe:** pedal, **d:** distancia recorrida por el peso, **p:** peso

El sujeto se sitúa en sedestación sobre una camilla, reclinado 45° con respecto a la horizontal y apoyado sobre un respaldo, con las extremidades inferiores extendidas a lo

largo del imán. El pie izquierdo se ajusta sobre el pedal en ángulo recto para realizar movimientos de flexión plantar activa y de dorsiflexión pasiva. Una ligera flexión de rodilla permite una mejor adaptación entre el captor de radiofrecuencia y la parte interna de la pantorrilla.

Se colocó la bobina de superficie contra los músculos del compartimento posterior de la pierna en el lugar de mayor área de sección transversa, a alrededor de 8 cm de distancia bajo la fosa poplíteica para un sujeto de una altura de 175cm. La bobina de 5 cm de diámetro permitía examinar alrededor de 5 cm³ volumen tisular, que comprendía principalmente las cabezas medial y lateral de gastrocnemius, el sóleo y los músculos plantares, que toman parte de la flexión plantar. Se favoreció el máximo contacto con la bobina para mejorar la calidad del espectro.

La maniobra de flexión plantar actuaba mediante el pedal sobre un sistema articulado de poleas levantando un soporte de 0,25 kg a una distancia fija de 0,185 m, en el cual se adosaban cargas variables que modificaban la resistencia al movimiento.

Este sistema mecánico permitía cuantificar la potencia (el trabajo) del ejercicio. La correcta ejecución de la maniobra exigía la fijación de la pelvis y la protección de la articulación de la rodilla evitando las compensaciones de extensión de la cadera y/o rodilla durante la realización de la maniobra de flexión plantar.

El trabajo realizado en cada maniobra podía ser cuantificado conociendo el peso desplazado (peso del soporte más carga variable) y la distancia recorrida por éste.

8.2.3. Colocación de los equipos de control en la sala de examen

Merece ser destacado que, dadas las características del procedimiento, y para evitar que se produjeran accidentes; se impidió en la sala la colocación o existencia de todo tipo de objetos ferromagnéticos que pudieran ser atraídos por el imán. Por es motivo todo el material en la sala del examen debía ser amagnético (aluminio, cobre, inoxidable, plomo). Por eso hubo que adaptar el material a las condiciones requeridas (camillas, clavos, cargas, poleas).

Además, como se conoce suficientemente la acción del campo magnético alterando el funcionamiento no sólo de todos los aparatos electrónicos, sino igualmente de todos los aparatos con memoria magnética; se solventó el problema, disponiendo en una sala contigua fuera del alcance del campo, los aparatos utilizados para el control del sujeto durante la prueba, así como aquellos materiales que por su naturaleza ferromagnética no podían ser introducidos en la sala del examen.

8.3. METODOLOGÍA- PROTOCOLO DEL EJERCICIO

8.3.1. Protocolo del ejercicio muscular

El protocolo se desarrolló en dos etapas sucesivas durante las cuales los sujetos mantuvieron sus miembros inferiores en el interior del imán. Antes del comienzo del ejercicio se adaptó la posición individual en el ergómetro con la técnica descrita anteriormente, procurando el máximo contacto entre el músculo y la bobina para mejorar la calidad del espectro obtenido.

Una vez calibrado el espectrómetro, se procedió a la obtención de un espectro de referencia en condiciones de reposo, solicitando del sujeto la ausencia de todo movimiento durante su registro con el fin de obtener el valor de reposo de las variables metabólicas de ^{31}P -RMN: Pi, PCr, ATP, PDE, PME y pHi.

A continuación se desarrolló la primera etapa, ejercicio de resistencia progresiva (ejercicio de carga incremental).

El ejercicio progresivo (ejercicio incremental, en rampa), consistió en la realización de un movimiento de flexión plantar, a una cadencia de 30 flexiones por minuto sobre el pedal del ergómetro que hacía de resistencia.

Tras un minuto de pedaleo, durante el cual el sujeto trabajó contra el pedal, la resistencia se aumentó de forma progresiva, añadiendo progresivamente sobre el soporte, cargas de 1 Kg cada minuto. Una señal acústica emitida por un cronómetro ayudó al sujeto a mantener la

cadencia del pedaleo. El ejercicio finalizó cuando el sujeto no pudo mantener la cadencia o no pudo desplazar el peso la distancia prefijada.

A partir de este momento y con el fin de estudiar la recuperación metabólica del músculo al esfuerzo, el sujeto permaneció en la posición correcta de reposo en el interior del imán, durante un tiempo de 8 minutos, mientras se realizaban los registros correspondientes a la recuperación. Se consideraron los 8 minutos como tiempo suficiente para garantizar la normalización de los espectros a condiciones de reposos.

Tanto durante el ejercicio como durante la recuperación del mismo se registraron los parámetros metabólicos musculares, obteniendo espectros cada 30 segundos.

El ejercicio incremental permitió estudiar la respuesta metabólica muscular a diferentes niveles de carga, pero también permitió establecer la carga máxima tolerada para cada sujeto y fijar el nivel individual de carga en el siguiente ejercicio

La segunda etapa desarrolló un ejercicio de resistencia constante (carga constante), cuyo nivel se fijó en el 70% de la carga individual alcanzada en el ejercicio progresivo.

Tras 15 minutos de reposo, y tras constatar el retorno a los valores de reposo del espectro, se procedió con el movimiento de flexión plantar sobre el pedal a la misma cadencia (30 flexiones/minuto), efectuado contra resistencia constante en esta ocasión.

El ejercicio finalizó cuando el sujeto no pudo mantener la cadencia o el desplazamiento del peso la distancia prevista. Se obtuvieron también espectros cada 30 s durante el ejercicio y la recuperación. Tras finalizar el ejercicio el sujeto permaneció en el interior del imán y en reposo 8 minutos más.

Se registraron la TA, FC y SaO₂ en condiciones basales de reposo y en cada minuto durante el ejercicio y en su recuperación.

Dos médicos estuvieron presentes durante toda la sesión para asegurar el buen desarrollo del ejercicio y la vigilancia clínica de los problemas o incidentes que pudieran presentar los sujetos. Se contó con material de reanimación y oxigenoterapia (carro de parada). Todos los sujetos realizaron sin incidentes la totalidad del protocolo.

8.3.2. Cronología del protocolo

Para la puesta a punto de este trabajo, se realizaron seis ejercicios que permitieron seleccionar la posición, la duración y la intensidad del ejercicio que permitiera captar en el interior del imán un esfuerzo muscular reproducible y cuantificable. Estos ejercicios no han sido contabilizados en los datos globales.

8.3.3. Elección del músculo

Fue elegido el músculo tríceps sural en razón de: su importante masa muscular, su capacidad para realizar un trabajo (mediante flexión plantar) y por tanto originar modificaciones espectroscópicas sensibles; por ser un músculo rico en fibras oxidativas; y por el tamaño del imán que permitía la acomodación del miembro inferior en su interior.

El tríceps sural está compuesto por tres músculos: gemelo interno, externo y el soleo. En razón a la posición del soporte de la bobina de radiofrecuencia en el interior del imán, es el gemelo interno el músculo que ha sido estudiado, éste es lo suficientemente voluminoso para permitir una buena resolución espacial.

Por ello la parte interna de la pantorrilla izquierda, correspondiente al gemelo interno, era colocada contra la bobina. Cuanto más estrecho es el contacto entre la bobina y el músculo mejor es la calidad del espectro.

El lugar correcto de contacto del captor de radiofrecuencia con la pierna se determinaba tras la medición del perímetro de la pantorrilla izquierda, haciéndolo coincidir con la región de mayor perímetro de la misma..

8.3.4. Incidencias durante el protocolo

De los 27 sujetos seleccionados inicialmente y que realizaron el protocolo; hubo que desechar los resultados de 3 sujetos, dada la baja calidad de los espectros obtenidos y la imposibilidad de repetirlos o de hacer un análisis sobre los mismos.

La muestra definitiva incluyó así 24 sujetos (12 FA y 12 C), ambos grupos estaban constituidos por 8 varones y 4 mujeres. (Fig 8.3) (Tabla 8.2)

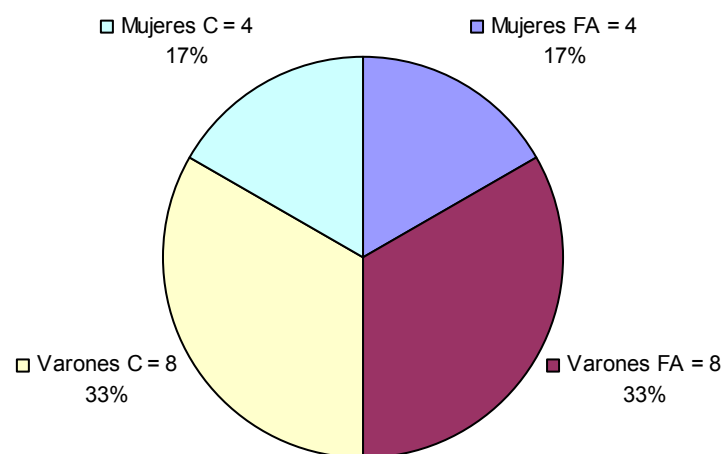


Figura 8.3 Distribución de la muestra N=24 sujetos

TABLA 8.2 DESCRIPTIVA DE LA MUESTRA

Variable	GLOBAL N = 24				FISICAMENTE ACTIVOS N = 12				CONTROL N = 12			
	Media	SD	SEM	Rango	Media	SD	SEM	Rango	Media	SD	SEM	Rango
EDAD	37,00	8,35	1,70	31,00	36,00	7,82	2,25	28,00	38,00	9,07	2,61	27,00
TALLA	170,66	9,00	1,83	30,00	173,33	9,23	2,66	29,00	168,00	8,29	2,39	24,00
PESO	68,37	11,31	2,30	36,00	70,00	9,62	2,77	28,00	66,75	13,01	3,75	36,00
PERIMETRO	37,95	2,17	0,44	6,60	38,20	2,06	0,59	6,40	37,69	2,33	0,67	6,10
IMC	23,34	2,46	0,50	11,46	23,20	1,67	0,48	5,38	23,47	3,13	0,90	10,87

SD, desviación típica

SEM, error típico de la media

Se describen las variables de edad, talla (cm), peso (kg), perímetro máximo de la pantorrilla (cm) e Índice de Masa Corporal (IMC)(Kg/cm²), para los dos grupos FA y C

8.4. ANÁLISIS DE DATOS

8.4.1. Cálculo de las variables metabólicas

Cálculo de: PCr/S, Pi/S, Pi/PCr, PME/S, PDE/S, ATP-β/S

Los niveles de cada metabolito se estiman a partir de las áreas comprendidas bajo cada uno de los picos del espectro, y se expresan como porcentaje del fosfato total o suma de todos los compuestos detectados (S), en unidades adimensionales.

Los datos de PCr también se expresaron como porcentaje del valor de PCr en reposo (%PCr_{rep}) para conseguir el mismo valor (100%) de reposo para todos los sujetos.

$$\%PCr_{rep}(t) = 100 * \frac{PCr(t)}{PCr(reposo)}$$

De forma análoga para el Pi se expresó como %Pi_{rep} para conseguir el mismo valor (100%) de reposo para todos los sujetos.

Cálculo del pH intracelular.

El pH intracelular fue calculado midiendo el desplazamiento químico (δ medido en ppm) entre los picos de Pi y PCr, utilizando la fórmula de Radda²⁷⁴:

$$pH = 6,75 + \log \frac{(\delta - 3,27)}{(5,69 - \delta)}$$

Cálculos de las concentraciones [Pi], [PCr], [ADP] y ΔG_{ATP}.

Para convertir las áreas bajo los picos en concentraciones, se considera que el pico de ATP- β representa el ATP total. Este se estima en 8,2 mM^{94,109,255}.

Las concentraciones de [Pi] y [PCr] se calculan como el producto de la relación entre áreas al ATP y 8,2 mM.

$$[Pi] = 8.2 * Pi/ATP-\beta \text{ mM}; \quad [PCr] = 8.2 * PCr/ATP-\beta \text{ mM}$$

La [Cr] es estimada en 42,5 mM, constante en todo el ejercicio²⁵⁵.

El ADP se calcula por medio de la reacción de equilibrio de la CK⁵⁵, asumiendo el valor estequiométrico de 1 para el consumo de H⁺ y una concentración libre de Mg²⁺ de 1 mM²⁷⁵ constante durante el ejercicio.

$$[ADP] = \frac{[ATP] * [Cr]}{K_{ck} * [PCr]} \text{ en mM}$$

$$K_{ck} = 166 * 10^{(7 - pH)} \text{ constante de equilibrio de la Creatin-kinasa}$$

El ΔG_{ATP} se calcula como¹⁰⁹:

$$\Delta G_{ATP} = \Delta G_0 + RT * \ln \frac{[ADP] * [Pi]}{[ATP]} + RT * \ln [10^{-(pH-7)}]$$

$\Delta G_0 = -32 \text{ kJ/mol}$ a pH=7⁸⁷, R es la constante del gas, T es la temperatura absoluta, y el valor de RT a 37° es de 2,58.

8.4.2. Cálculo de las potencias del ejercicio

Cálculo para el ejercicio incremental.

Se consideró la potencia máxima tolerada (PMT) como la carga máxima que cada sujeto alcanzó al final del ejercicio. Para realizar comparaciones de la cinética del ejercicio a la misma carga equivalente, se normalizan las variables para cada sujeto a porcentajes con respecto a la PMT (100%). Se ajustan los valores de las variables metabólicas a los

diferentes porcentajes (a intervalos de 10%), calculando por interpolación lineal el valor correspondiente

8.4.3. Cálculo del trabajo realizado

Cálculo del trabajo realizado al final del ejercicio incremental

Durante el ejercicio incremental el trabajo realizado en cada maniobra se cuantifica con el peso desplazado (peso del soporte mas carga variable) y la distancia recorrida por éste, según la fórmula:

$$W (J) = (0,25 + Kilos) * 9,8 * 0,185 * tiempo$$

tiempo = 30 veces/minuto; $W=J/s$

En el primer minuto de ejercicio cada sujeto realiza un trabajo de 0,226 W, (kilos = 0;)

Por minuto cada sujeto realiza un trabajo de 0,906 watsios .(El incremento de la carga desplazada es de un kilo/min)

El trabajo máximo en watsios realizado por cada sujeto (que corresponde al último minuto) se calcula como:

$$W_{\max\text{Prog}} (W) = 0,226 + 0,906 (TD_{\text{prog}} - 1)$$

nº de kilos levantado =(TDprog – 1). Siendo TDprog la duración del ejercicio incremental.

El trabajo máximo realizado por cada sujeto en Julios se calcula como:

$$W_{\max\text{Prog}} (J) = \sum_1^{TD_{\text{prog}}} (13,5975 + 54,39 * (TD_{\text{prog}} - 1))$$

Cálculo del trabajo realizado al final del ejercicio constante

Durante el ejercicio constante el trabajo realizado en cada maniobra se cuantifica a partir del peso desplazado (peso del soporte mas carga que levanta cada sujeto, 70% de la máxima levantada en el incremental) y la distancia recorrida por éste, según la fórmula:

$$W_{\text{cons}} (J) = (0,25 + (0,7 * K_{\text{prog}})) * 9,8 * 0,185 * tiempo$$

tiempo = 30 veces/minuto; $W=J/s$

El trabajo en cada minuto sería :

$$W_{\text{cons}}(W) = (0,25 + (0,7 * K_{\text{prog}})) * 9,8 * 0,185 * 30 \text{ veces} / 60 \text{ seg}$$

El trabajo acumulado al final del ejercicio sería:

$$W_{\text{maxcons}}(J) = (0,25 + (0,7 * K_{\text{prog}})) * 9,8 * 0,185 * 30 * TD_{\text{cons}}$$

Siendo TDcons la duración del ejercicio constante.

8.4.4. Identificación del umbral de pHi y Pi/PCr

El pHi y el Pi/PCr fueron representados gráficamente como función del porcentaje de la PMT y expresados como porcentajes del trabajo máximo (%W_{max}) realizado en el ejercicio incremental. Se utilizó una regresión lineal en dos tramos para ajustar los datos y determinar el punto en el cual las dos rectas de regresión se cruzaron. Dicho punto se denomina umbral intracelular (IT) o umbral de ruptura^{234,276}.

Se calculó el valor del pHi para el IT (IT pHi), que fue expresado en relación a la PMT; o valor de %W para el IT. Para la recta del primer tramo se calcula la pendiente pHi/%Wmax).

Se calculó el valor del Pi/PCr para el IT (IT Pi/PCr), que fue expresado en relación a la PMT; o valor de %W para el IT. Para la recta del primer tramo se calcula la pendiente %Wmax/(Pi/PCr)¹⁶⁷.

8.4.5. Cálculo de tiempos medios de estabilización al comienzo del ejercicio constante (ON).

Tiempo medio de estabilización del PCr (τ PCr)

Se aproximan los valores a un modelo monoexponencial por medio de una ecuación de regresión no lineal, hasta conseguir el mejor ajuste (el mejor estadístico R-cuadrado), según la siguiente fórmula:

$$PCr(t) = R + D * e^{-B*t}$$

B = constante de tiempo de la monoexponencial = K PCr

R = valor de estabilización del PCr_{estab}

R + D = valor al comienzo del ejercicio de PCr_{rep}

D = (PCr_{rep} – PCr_{estab})

Se define el τ PCr como el tiempo que tarda el PCr en llegar al valor D/2, así::

$$T_{1/2} \text{ (seg)} = \frac{60 * \ln 2}{KPCr} = \tau \text{ PCr}_{ON}$$

Tiempo medio de estabilización del Pi (τ Pi) y del Pi/PCr (τ Pi/PCr)

Para el estudio de la cinética de estabilización en el ejercicio constante del Pi y del Pi/PCr se aproximan los valores a un modelo monoexponencial por medio de una ecuación de regresión no lineal, hasta conseguir el mejor ajuste (el mejor estadístico R-cuadrado), de la siguiente forma:

$$Pi(t) = R - D * e^{-B*t} \quad y \quad \frac{Pi}{PCr}(t) = R - D * e^{-B*t}$$

B = constante de tiempo de la monoexponencial

R = valor de estabilización del Pi_{estab} o del Pi/PCr_{estab}

R - D = valor al comienzo del ejercicio de Pi_{rep} o Pi/PCr_{rep}

D = (Pi_{estab} – Pi_{rep}) o (Pi/PCr_{estab} – Pi/PCr_{rep})

Se calcula el τ Pi y el τ Pi/PCr de forma similar al caso anterior

8.4.6. Cálculo de tiempos medios de recuperación de ejercicio(OFF).

Para el estudio de la cinética de la resíntesis del PCr en recuperación, se ha utilizado un modelo monoexponencial.

Se aproximan los valores de PCr, por medio de una ecuación de regresión no lineal, hasta conseguir el mejor ajuste (el mejor estadístico R-cuadrado), de la siguiente forma:

$$PCr(t) = R - D * e^{-B*t}$$

B = constante de tiempo de la monoexponencial = K PCr

R = valor de estabilización del PCr (\cong PCr rep)

R - D = valor de PCr t=0 al comienzo ó tiempo 0 de recuperación

D = PCr rep – PCr t=0

Se calcula el τ PCr de forma similar a las anteriores monoexponenciales.

Las cinéticas de la recuperación del Pi y del Pi/PCr se aproximan los valores a un modelo monoexponencial por medio de una ecuación de regresión no lineal, hasta conseguir el mejor ajuste (el mejor estadístico R-cuadrado), de la siguiente forma:

$$Pi(t) = R + D * e^{-B*t} \quad y \quad \frac{Pi}{PCr}(t) = R + D * e^{-B*t}$$

B = constante de tiempo de la monoexponencial

R = valor de estabilización del Pi (\cong Pi rep) o del Pi/PCr (\cong Pi/PCr rep)

R + D = valor de Pi t=0 al comienzo ó tiempo 0 de recuperación ó Pi/PCr t=0

D = (Pi t=0 – Pi rep) ó (Pi/PCr t=0 – Pi/PCr rep)

Se calcula el τ Pi y el τ Pi/PCr de forma similar al resto de monoexponenciales.

8.4.7. Velocidad inicial de la recuperación de PCr

La velocidad inicial de resíntesis de PCr (ViPCr) se ha calculado para el presente estudio como la derivada de la función monoexponencial en el comienzo de la recuperación (pendiente inicial) e igual al producto de la KPCr (constante de velocidad) por el PCr consumido al final del ejercicio, expresado como porcentaje respecto al valor de reposo.

$$Vi\%PCr_{rep} = (\%PCr_{rep} - \%PCr_{final}) * K PCr$$

Donde K PCr es la constante de tiempo de la monoexponencial del PCr

También se ha calculado de una forma análoga la ViPCr utilizando la concentración de [PCr]

$$Vi[PCr] = ([PCr]_{rep} - [PCr]_{final}) * K PCr$$

Donde K PCr es la constante de tiempo de la monoexponencial de [PCr].

8.5. METODO ESTADISTICO

Se utilizaron los programas SPSS versión 12.01 para Windows para el cálculo estadístico y el programa StatGraphics Plus versión 5.1 para Windows para el cálculo de ecuaciones de regresión y la comparación de las mismas.

El procedimiento empleado para hallar diferencias entre medias de variables entre grupos FA y C fue la Prueba T para muestras independientes (T de Student). Se consideró significativo un p-valor <0,05.

Las comparaciones de medias a diferentes niveles de ejercicio incremental, constante o recuperación se realizaron utilizando una ANOVA de medidas repetidas. El procedimiento ANOVA de Medidas repetidas proporciona un análisis de varianza cuando se toma la misma medida varias veces a cada sujeto o caso. Si se especifican factores inter-sujetos, éstos dividen la población en grupos (FA y C). Utilizando este procedimiento del modelo lineal general, puede contrastar hipótesis nulas sobre los efectos tanto de los factores inter-sujetos como de los factores intra-sujetos. Asimismo puede investigar las interacciones entre los factores y también los efectos individuales de los factores. Se consideró significativo un p-valor <0,05.

Las comparaciones entre tipos de ejercicio se realizaron a través de la prueba de la T pareada para muestra relacionadas. Se consideró significativo un p-valor <0,05.

El estudio de las interrelaciones entre variables se realizó mediante el procedimiento de Correlación Bivariada, que calcula el coeficiente de correlación lineal de Pearson, con sus niveles de significación. Se consideró significativo un p-valor $<0,05$.

Hemos utilizado el procedimiento de la regresión lineal para estimar los coeficientes de la ecuación lineal, con una o más variables independientes, que mejor prediga el valor de la variable dependiente. El procedimiento utilizado nos proporciona:

- El coeficiente de correlación “r”, para medir la relación lineal entre la variable independiente y la dependiente. (entre 0 y 1).
- Una tabla ANOVA para el modelo, con el F-ratio que nos da el nivel de significación. Se considera significativo un p-valor $<0,05$.

Se comparan las rectas de regresión por el procedimiento “Comparación de rectas de Regresión” que proporciona una tabla ANOVA, para la comparación de pendientes. El F-ratio proporciona el nivel de significación. Se considera significativo un p-valor $<0,05$.

RESULTADOS

9. RESULTADOS

9.1 TABLAS

Homogeneidad de las variables EDAD, TALLA, PESO, PERÍMETRO e IMC

Grupos FA y C, se realiza una ANOVA de las variables con el factor actividad física.

Se demuestra la homogeneidad de las muestras para un p-valor < 0,05.

TABLA 9.1. ANOVA variables EDAD, TALLA, PESO, PERÍMETRO e IMC

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
EDAD	Inter-grupos	24,000	1	24,000	,334	,569
	Intra-grupos	1580,000	22	71,818		
	Total	1604,000	23			
TALLA	Inter-grupos	170,667	1	170,667	2,216	,151
	Intra-grupos	1694,667	22	77,030		
	Total	1865,333	23			
PESO	Inter-grupos	63,375	1	63,375	,484	,494
	Intra-grupos	2880,250	22	130,920		
	Total	2943,625	23			
PERIMETRO	Inter-grupos	1,602	1	1,602	,329	,572
	Intra-grupos	106,978	22	4,863		
	Total	108,580	23			
IMC	Inter-grupos	,433	1	,433	,068	,796
	Intra-grupos	139,159	22	6,325		
	Total	139,592	23			

TABLA 9.2 . Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
EDAD	,820	1	22	,375
TALLA	,188	1	22	,668
PESO	,956	1	22	,339
PERIM	,807	1	22	,379
IMC	2,920	1	22	,102

Duración de los ejercicios, Trabajo efectuado.

TABLA 9.3 Duración de los ejercicios, trabajo efectuado

Variable	GLOBAL N = 24			FISICAMENTE ACTIVOS N = 12			CONTROL N = 12		
	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo
TDprog	14,81 \pm 0,53	20,00	10,00	15,79 \pm 0,86	20,00	12,00	13,83 \pm 0,52	16,00	10,00
TDcons	14,38 \pm 1,14	26,00	7,00	16,92 \pm 1,85*	26,00	8,50	11,83 \pm 0,91*	15,00	7,00
WmaxProg(W)	12,7 5 \pm 0,48	17,45	8,39	13,64 \pm 0,78	17,45	10,20	11,86 \pm 0,47	13,82	8,39
Wcons(W)	9,03 \pm 0,34	12,28	5,94	9,65 \pm 0,56	12,28	7,21	8,40 \pm 0,33	9,74	5,94
WmaxProg(J)	5943,13 \pm 442,86	10605,90	2583,45	6789,57 \pm 742,37	10605,90	3752,82	5096,69 \pm 372,52	6744,24	2583,45
Wcons7min(J)	3791,44 \pm 144,52	5158,89	2493,78	4054,77 \pm 235,35	5158,89	3026,80	3528,10 \pm 139,09	4092,85	2493,78
Wmaxcons(J)	8225,47 \pm 946,92	17323,20	2850,04	10393,70 \pm 1602,09*	17323,20	3675,40	6057,23 \pm 572,90*	8185,69	2850,04

t-student (FA/C) *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

TDprog, tiempo de duración del ejercicio progresivo (minutos)

TDcons tiempo de duración del ejercicio constante (minutos)

WmaxProg(W) Potencia maxima efectuada en el ejercicio progresivo(vatios)

Wcons(W) Potencia efectuada en el ejercicio constante (vatios)

WmaxProg(J) Trabajo maximo efectuada en el ejercicio progresivo (julios)

Wcons7min(J) Trabajo efectuado a los 7 minutos en el ejercicio constante (julios)

Wmaxcons(J) Trabajo efectuado al final del ejercicio constante (julios)

Correlaciones entre el tiempo de duración de los ejercicios y las características físicas.

Correlación de Pearson. Se consideran significativas con una $p < 0,05$.

TABLA 9.4. Correlaciones TD PROG y TDCONS con variables antropométricas

		TDPROG	TDCONS	TALLA	PESO	PERIM	IMC
TDPROG	Correlación de Pearson	1	,819(**)	,773(**)	,644(**)	,450(*)	,249
	Sig. (bilateral)		,000	,000	,001	,027	,240
	N	24	24	24	24	24	24
TDCONS	Correlación de Pearson	,819(**)	1	,748(**)	,701(**)	,576(**)	,377
	Sig. (bilateral)	,000		,000	,000	,003	,069
	N	24	24	24	24	24	24
TALLA	Correlación de Pearson	,773(**)	,748(**)	1	,796(**)	,501(*)	,284
	Sig. (bilateral)	,000	,000		,000	,013	,178
	N	24	24	24	24	24	24
PESO	Correlación de Pearson	,644(**)	,701(**)	,796(**)	1	,786(**)	,804(**)
	Sig. (bilateral)	,001	,000	,000		,000	,000
	N	24	24	24	24	24	24
PERIM	Correlación de Pearson	,450(*)	,576(**)	,501(*)	,786(**)	1	,750(**)
	Sig. (bilateral)	,027	,003	,013	,000		,000
	N	24	24	24	24	24	24
IMC	Correlación de Pearson	,249	,377	,284	,804(**)	,750(**)	1
	Sig. (bilateral)	,240	,069	,178	,000	,000	
	N	24	24	24	24	24	24

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Correlaciones entre el trabajo máximo realizado en los ejercicios y las características físicas

Correlación de Pearson. Se consideran significativas con una $p < 0,05$.

TABLA 9.5. Correlaciones del Trabajo máximo con las variables antropométricas

		WmaxProg (J)	WmaxCons (J)	TALLA	PESO	PERIM	IMC
WmaxProg(J)	Correlación de Pearson	1	,918(**)	,760(**)	,630(**)	,426(*)	,236
	Sig. (bilateral)		,000	,000	,001	,038	,266
	N	24	24	24	24	24	24
WmaxCons(J)	Correlación de Pearson	,918(**)	1	,756(**)	,671(**)	,524(**)	,313
	Sig. (bilateral)	,000		,000	,000	,009	,136
	N	24	24	24	24	24	24
TALLA	Correlación de Pearson	,760(**)	,756(**)	1	,796(**)	,501(*)	,284
	Sig. (bilateral)	,000	,000		,000	,013	,178
	N	24	24	24	24	24	24
PESO	Correlación de Pearson	,630(**)	,671(**)	,796(**)	1	,786(**)	,804(**)
	Sig. (bilateral)	,001	,000	,000		,000	,000
	N	24	24	24	24	24	24
PERIM	Correlación de Pearson	,426(*)	,524(**)	,501(*)	,786(**)	1	,750(**)
	Sig. (bilateral)	,038	,009	,013	,000		,000
	N	24	24	24	24	24	24
IMC	Correlación de Pearson	,236	,313	,284	,804(**)	,750(**)	1
	Sig. (bilateral)	,266	,136	,178	,000	,000	
	N	24	24	24	24	24	24

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Correlaciones al final del ejercicio incremental

Correlaciones de Pearson entre las distintas variables metabólicas, al final del ejercicio incremental. Se considera significativo con una p-valor <0,05.

TABLA 9.6. Correlaciones al final del ejercicio incremental

		PCr/S _{final}	Pi/S _{final}	pHi _{final}	Pi/PCr _{final}	WmaxProg
PCr/S _{final}	Correlación de Pearson	1	-,574(**)	,548(**)	-,890(**)	,219
	Sig. (bilateral)		,003	,006	,000	,304
	N	24	24	24	24	24
Pi/S _{final}	Correlación de Pearson	-,574(**)	1	-,634(**)	,685(**)	-,018
	Sig. (bilateral)	,003		,001	,000	,934
	N	24	24	24	24	24
pHi _{final}	Correlación de Pearson	,548(**)	-,634(**)	1	-,698(**)	,126
	Sig. (bilateral)	,006	,001		,000	,558
	N	24	24	24	24	24
Pi/PCr _{final}	Correlación de Pearson	-,890(**)	,685(**)	-,698(**)	1	-,075
	Sig. (bilateral)	,000	,000	,000		,729
	N	24	24	24	24	24
WmaxProg	Correlación de Pearson	,219	-,018	,126	-,075	1
	Sig. (bilateral)	,304	,934	,558	,729	
	N	24	24	24	24	24

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Correlaciones al final del ejercicio constante

Correlaciones de Pearson entre las distintas variables metabólicas, al final del ejercicio constante. Se considera significativo un p-valor <0,05.

TABLA 9.7. Correlaciones al final del ejercicio constante

		PCr/S _{final}	Pi/S _{final}	pHi _{final}	Pi/PCr _{final}	WmaxCons(J)
PCr/S _{final}	Correlación de Pearson	1	-,390	,422(*)	-,738(**)	-,063
	Sig. (bilateral)		,060	,040	,000	,771
	N	24	24	24	24	24
Pi/S _{final}	Correlación de Pearson	-,390	1	-,590(**)	,842(**)	-,083
	Sig. (bilateral)	,060		,002	,000	,699
	N	24	24	24	24	24
pHi _{final}	Correlación de Pearson	,422(*)	-,590(**)	1	-,264	,006
	Sig. (bilateral)	,040	,002		,213	,976
	N	24	24	24	24	24
Pi/PCr _{final}	Correlación de Pearson	-,738(**)	,842(**)	-,264	1	-,023
	Sig. (bilateral)	,000	,000	,213		,914
	N	24	24	24	24	24
WmaxCons(J)	Correlación de Pearson	-,063	-,083	,006	-,023	1
	Sig. (bilateral)	,771	,699	,976	,914	
	N	24	24	24	24	24

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Variables metabólicas en reposo y al final del ejercicio incremental

TABLA 9.8 Variables metabólicas en reposo y al final del ejercicio incremental

GLOBAL	REPOSO	FINAL
	Media ± SEM	Media ± SEM
pHi	7,0335 ± 0,03575	7,0352 ± 0,00898
PCr/S	0,4229 ± 0,02595	0,4234 ± 0,00589
%PCr _{rep}	100 ± 0	100 ± 0
Pi/PCr	0,1693 ± 0,04128	0,1601 ± 0,01028
Pi/S	0,0719 ± 0,01936	0,0676 ± 0,00407
%Pi _{rep}	100 ± 0	100 ± 0
ATPβ/S	0,0829 ± 0,02573	0,0722 ± 0,00242
[Pi]	7,77 ± 3,07409	7,7619 ± 0,49276
[PCr]	45,1782 ± 12,10207	48,7102 ± 1,80055

Variables metabólicas en reposo del ejercicio incremental

Comparación de las variables metabólicas en reposo del ejercicio, con la condición actividad física.

T de Student para muestras independientes.

Se considera significativa con un p-valor <0,05.

TABLA 9.9 Comparación Variables metabólicas en reposo

REPOSO	GRUPO F. ACTIVOS	GRUPO CONTROL	p-valor con respecto a la ACTIVIDAD FISICA (t-student)
	Media \pm SEM	Media \pm SEM	
pHi	7,0352 \pm 0,00898	7,0317 \pm 0,01189	0,812
PCr/S	0,4234 \pm 0,00589	0,4224 \pm 0,00909	0,927
%PCr _{rep}	100 \pm 0	100 \pm 0	-
Pi/Pcr	0,1601 \pm 0,01028	0,1786 \pm 0,01325	0,282
Pi/S	0,0676 \pm 0,00407	0,0762 \pm 0,00674	0,290
%Pi _{rep}	100 \pm 0	100 \pm 0	-
ATP β /S	0,0722 \pm 0,00242	0,0937 \pm 0,00941	0,066
[Pi]	7,7619 \pm 0,49276	7,7782 \pm 1,18481	0,990
[PCr]	48,7102 \pm 1,80055	41,6462 \pm 4,47319	0,164

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

Correlaciones entre IT y variables metabólicas al final del ejercicio

Se han realizado correlaciones de Pearson entre los IT y las distintas variables metabólicas, al final del ejercicio incremental. Se considera significativo una $p < 0,05$. Los resultados son los siguientes:

TABLA 9.10. Correlaciones con IT

		ITpHi%W	ITpipcr%W	PCr/S _{final}	pHi _{final}	Pi/S _{final}	Pi/PCr _{final}
ITpHi%W	Correlación de Pearson	1	,664(**)	,371	,788(**)	-,675(**)	-,529(**)
	Sig. (bilateral)		,000	,074	,000	,000	,008
	N	24	24	24	24	24	24
ITpipcr%W	Correlación de Pearson	,664(**)	1	,443(*)	,637(**)	-,669(**)	-,520(**)
	Sig. (bilateral)	,000		,030	,001	,000	,009
	N	24	24	24	24	24	24
PCr/S _{final}	Correlación de Pearson	,371	,443(*)	1	,548(**)	-,574(**)	-,890(**)
	Sig. (bilateral)	,074	,030		,006	,003	,000
	N	24	24	24	24	24	24
pHi _{final}	Correlación de Pearson	,788(**)	,637(**)	,548(**)	1	-,634(**)	-,698(**)
	Sig. (bilateral)	,000	,001	,006		,001	,000
	N	24	24	24	24	24	24
Pi/S _{final}	Correlación de Pearson	-,675(**)	-,669(**)	-,574(**)	-,634(**)	1	,685(**)
	Sig. (bilateral)	,000	,000	,003	,001		,000
	N	24	24	24	24	24	24
Pi/PCr _{final}	Correlación de Pearson	-,529(**)	-,520(**)	-,890(**)	-,698(**)	,685(**)	1
	Sig. (bilateral)	,008	,009	,000	,000	,000	
	N	24	24	24	24	24	24

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Variables metabólicas al final del ejercicio incremental

Comparación de las variables metabólicas al final del ejercicio, con la condición actividad física.

T de Student para muestras independientes.

Se considera significativa con un p-valor <0,05.

TABLA 9.11 Comparación Variables metabólicas al final del ejercicio incremental

FINAL	GRUPO F. ACTIVOS	GRUPO CONTROL	p-valor con respecto a la ACTIVIDAD FISICA (t-student)
	Media \pm SEM	Media \pm SEM	
pHi	6,9002 \pm 0,03554	6,5765 \pm 0,05441	0,000 ***
PCr/S	0,1582 \pm 0,01304	0,1011 \pm 0,00835	0,002 **
%PCr _{rep}	37,646 \pm 3,38012	23,841 \pm 1,79129	0,002 **
Pi/Pcr	2,1893 \pm 0,27348	4,0748 \pm 0,46012	0,002 **
Pi/S	0,3084 \pm 0,01403	0,3748 \pm 0,01745	0,007 **
%Pi _{rep}	477,1761 \pm 39,70265	531,8223 \pm 50,17646	0,402
ATP β /S	0,0792 \pm 0,0087	0,0576 \pm 0,01618	0,256
[Pi]	35,2448 \pm 1,70884	35,9023 \pm 3,08067	0,854
[PCr]	18,2448 \pm 1,75181	10,3046 \pm 1,55349	0,003 **

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

TABLA 9.12 Variables metabólicas del ejercicio constante

	Global 24 sujetos			
	Reposo	Final	7 min	3 min
pHi	7,01±0,024	6,92±0,030	6,95±0,016	
PCr/S	0,429±0,008	0,213±0,011	0,209±0,011	0,211±0,010
%PCr_{rep}	100	49,60±2,40	48,91±2,59	49,31±2,27
Pi/PCr	0,175±0,014	1,408±0,144	1,470±0,158	1,429±0,147
Pi/S	0,074±0,005	0,270±0,017	0,274±0,019	0,275±0,022
%Pi_{rep}	100	383,2±23,2	390,1±26,13	396,2±36,05
ATPβ/S	0,080±0,005	0,077±0,009	-	
	Grupo FISICAMENTE ACTIVOS			
	Reposo	Final	7 min	3 min
pHi	7,04±0,008	6,97±0,023	6,98± 0,013	
PCr/S	0,433±0,011	0,234±0,018	0,237±0,015	0,231 ± 0,015
%PCr_{rep}	100	54,03±4,05	55,07±3,67	53,08 ± 3,30
Pi/PCr	0,187±0,024	1,170±0,232	1,024±0,137	1,055 ± 0,149
Pi/S	0,078±0,008	0,233±0,021	0,221±0,015	0,220 ± 0,018
%Pi_{rep}	100	307,7±26,5	291,7±16,91	290,1 ± 19,43
	Grupo CONTROL			
	Reposo	Final	7 min	3 min
pHi	6,98±0,040	6,86±0,053	6,92±0,026	
PCr/S	0,425±0,013	0,192±0,011	0,181±0,012	0,185 ± 0,015
%PCr_{rep}	100	45,18±2,03	42,75±2,77	43,55 ± 2,85
Pi/PCr	0,162±0,016	1,646±0,154	1,916±0,222	1,803 ± 0,206
Pi/S	0,070±0,008	0,307±0,023	0,328±0,028	0,330 ± 0,0353
%Pi_{rep}	100	458,6±22,6	488,4±28,48	502,4 ± 54,85

TABLA 9.13 Correlaciones durante el ejercicio constante (7 minutos)

		τ PCr	τ Pi/PCr	τ Pi	PCr7min	Pi/Pcr7min	Pi/S7min	pHi7min	pHifinal	IT-pHiW	IT-Pi/PCrW
τ PCr	Correlación de Pearson	1	,750(**)	,749(**)	-,513(*)	,520(**)	,553(**)	-,637(**)	-,488(*)	-,607(**)	-,573(**)
	Sig. (bilateral)		,000	,000	,010	,009	,005	,001	,015	,002	,003
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
τ Pi/PCr	Correlación de Pearson	,750(**)	1	,718(**)	-,623(**)	,574(**)	,332	-,545(**)	-,397	-,471(*)	-,199
	Sig. (bilateral)	,000		,000	,001	,003	,113	,006	,055	,020	,351
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
τ Pi	Correlación de Pearson	,749(**)	,718(**)	1	-,523(**)	,403	,395	-,480(*)	-,422(*)	-,297	-,297
	Sig. (bilateral)	,000	,000		,009	,051	,056	,018	,040	,158	,159
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
PCr7min	Correlación de Pearson	-,513(*)	-,623(**)	-,523(**)	1	-,800(**)	-,458(*)	,425(*)	,284	,395	,474(*)
	Sig. (bilateral)	,010	,001	,009		,000	,025	,039	,179	,056	,019
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
Pi/Pcr7min	Correlación de Pearson	,520(**)	,574(**)	,403	-,800(**)	1	,811(**)	-,645(**)	-,638(**)	-,629(**)	-,644(**)
	Sig. (bilateral)	,009	,003	,051	,000		,000	,001	,001	,001	,001
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
Pi/S7min	Correlación de Pearson	,553(**)	,332	,395	-,458(*)	,811(**)	1	-,596(**)	-,685(**)	-,579(**)	-,736(**)
	Sig. (bilateral)	,005	,113	,056	,025	,000		,002	,000	,003	,000
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
pHi7min	Correlación de Pearson	-,637(**)	-,545(**)	-,480(*)	,425(*)	-,645(**)	-,596(**)	1	,745(**)	,557(**)	,593(**)
	Sig. (bilateral)	,001	,006	,018	,039	,001	,002		,000	,005	,002
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
pHifinal	Correlación de Pearson	-,488(*)	-,397	-,422(*)	,284	-,638(**)	-,685(**)	,745(**)	1	,655(**)	,620(**)
	Sig. (bilateral)	,015	,055	,040	,179	,001	,000	,000		,001	,001
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
IT-pHiW	Correlación de Pearson	-,607(**)	-,471(*)	-,297	,395	-,629(**)	-,579(**)	,557(**)	,655(**)	1	,664(**)
	Sig. (bilateral)	,002	,020	,158	,056	,001	,003	,005	,001		,000
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
IT-Pi/PCrW	Correlación de Pearson	-,573(**)	-,199	-,297	,474(*)	-,644(**)	-,736(**)	,593(**)	,620(**)	,664(**)	1
	Sig. (bilateral)	,003	,351	,159	,019	,001	,000	,002	,001	,000	
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral). * La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

TABLA 9.14 Tiempos medios para el ejercicio constante

	Global	Grupo FA	Grupo C
	τ_{on}	τ_{on}	τ_{on}
PCr/S	37,3 \pm 2,3	29,7 \pm 2,07***	44,9 \pm 2,8***
%PCr_{rep}	37,3 \pm 2,3	29,7 \pm 2,07***	44,9 \pm 2,8***
Pi/PCr	45,5 \pm 3,0	40,3 \pm 3,3	50,8 \pm 4,6
Pi/S	33,0 \pm 2,0	30,0 \pm 2,6	36,1 \pm 2,8
%Pi_{rep}	33,0 \pm 2,0	30,0 \pm 2,6	36,1 \pm 2,8

T student FA/C *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

TABLA 9.15 Correlaciones de τ PCr para recuperación ejercicio incremental

		τ PCr	pHifinal	pHimin	%PCr _{Rep} final
τ PCr	Correlación de Pearson	1	-,516(**)	-,380	-,424(*)
	Sig. (bilateral)		,010	,067	,039
	N	24	24	24	24
pHifinal	Correlación de Pearson	-,516(**)	1	,832(**)	,560(**)
	Sig. (bilateral)	,010		,000	,004
	N	24	24	24	24
pHimin	Correlación de Pearson	-,380	,832(**)	1	,474(*)
	Sig. (bilateral)	,067	,000		,019
	N	24	24	24	24
%PCr _{Rep} final	Correlación de Pearson	-,424(*)	,560(**)	,474(*)	1
	Sig. (bilateral)	,039	,004	,019	
	N	24	24	24	24

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

TABLA 9.16 Correlaciones de τ PCr para recuperación ejercicio constante

		τ PCr	pHifinal	pHimin	%PCr _{Rep} final
τ PCr	Correlación de Pearson	1	-,773(**)	-,669(**)	-,359
	Sig. (bilateral)		,000	,000	,085
	N	24	24	24	24
pHifinal	Correlación de Pearson	-,773(**)	1	,831(**)	,226
	Sig. (bilateral)	,000		,000	,288
	N	24	24	24	24
pHimin	Correlación de Pearson	-,669(**)	,831(**)	1	,264
	Sig. (bilateral)	,000	,000		,212
	N	24	24	24	24
%PCr _{Rep} final	Correlación de Pearson	-,359	,226	,264	1
	Sig. (bilateral)	,085	,288	,212	
	N	24	24	24	24

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

TABLA 9.17 Correlaciones de τ PCr para recuperación ejercicio grupo FA

		τ PCr	pHifinal	pHimin	%PCr _{Rep} final
τ PCr	Correlación de Pearson	1	-,248	-,100	-,281
	Sig. (bilateral)		,243	,642	,183
	N	24	24	24	24
pHifinal	Correlación de Pearson	-,248	1	,693(**)	,290
	Sig. (bilateral)	,243		,000	,169
	N	24	24	24	
pHimin	Correlación de Pearson	-,100	,693(**)	1	,224
	Sig. (bilateral)	,642	,000		,293
	N	24	24	24	24
%PCr _{Rep} final	Correlación de Pearson	-,281	,290	,224	1
	Sig. (bilateral)	,183	,169	,293	
	N	24	24	24	24

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

TABLA 9.18 Correlaciones de τ PCr para recuperación ejercicio grupo C

		τ PCr	pHifinal	pHimin	%PCr _{Rep} final
τ PCr	Correlación de Pearson	1	-,541(**)	-,531(**)	-,221
	Sig. (bilateral)		,006	,008	,298
	N	24	24	24	24
pHifinal	Correlación de Pearson	-,541(**)	1	,815(**)	,638(**)
	Sig. (bilateral)	,006		,000	,001
	N	24	24	24	24
pHimin	Correlación de Pearson	-,531(**)	,815(**)	1	,513(*)
	Sig. (bilateral)	,008	,000		,010
	N	24	24	24	24
%PCr _{Rep} final	Correlación de Pearson	-,221	,638(**)	,513(*)	1
	Sig. (bilateral)	,298	,001	,010	
	N	24	24	24	24

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

TABLA 9.19 Valores de Vi%PCr en la recuperación

Variable	GLOBAL N = 48			FISICAMENTE ACTIVOS N = 24			CONTROL N = 24		
	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo
Vi%PCr_{rep} I	77,122 \pm 4,732	114,85	40,45	84,688 \pm 6,960	114,09	40,45	69,556 \pm 5,899	114,85	45,83
Vi%PCr_{rep} CT	74,113 \pm 10,185	276,96	28,88	90,933 \pm 18,600	276,96	28,88	57,293 \pm 6,035	107,11	31,56
Variable	GLOBAL N = 48			EJERCICIO INCREMENTAL N = 24			EJERCICIO CONSTANTE N = 24		
	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo
Vi%PCr_{rep} FA	87,811 \pm 9,733*	276,96	28,88	84,688 \pm 6,960*	114,09	40,45	90,933 \pm 18,600*	276,96	28,88
Vi%PCr_{rep} C	63,425 \pm 4,320*	114,85	31,56	69,556 \pm 5,899*	114,85	45,83	57,293 \pm 6,035*	107,11	31,56

T de Student entre FA/C *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

T pareada entre I/CT ^ap<0,05, ^{aa}p<0,01, ^{aaa}p<0,001

TABLA 9.20a Correlaciones de Vi %PCr para recuperación ejercicio incremental

		Vi%PCr _{Rep}	pHifinal	pHimin	%PCr _{Rep} final
Vi%PCr _{Rep}	Correlación de Pearson	1	,374	,266	,000
	Sig. (bilateral)		,072	,209	,999
	N	24	24	24	24
pHifinal	Correlación de Pearson	,374	1	,832(**)	,560(**)
	Sig. (bilateral)	,072		,000	,004
	N	24	24	24	24
pHimin	Correlación de Pearson	,266	,832(**)	1	,474(*)
	Sig. (bilateral)	,209	,000		,019
	N	24	24	24	24
%PCr _{Rep} final	Correlación de Pearson	,000	,560(**)	,474(*)	1
	Sig. (bilateral)	,999	,004	,019	
	N	24	24	24	24

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

TABLA 9.20b Correlaciones de Vi %PCr para recuperación ejercicio constante

		Vi%PCr _{Rep}	pHifinal	pHimin	%PCr _{Rep} final
Vi%PCr _{Rep}	Correlación de Pearson	1	,259	,260	,097
	Sig. (bilateral)		,221	,219	,651
	N	24	24	24	24
pHifinal	Correlación de Pearson	,259	1	,831(**)	,226
	Sig. (bilateral)	,221		,000	,288
	N	24	24	24	24
pHimin	Correlación de Pearson	,260	,831(**)	1	,264
	Sig. (bilateral)	,219	,000		,212
	N	24	24	24	24
%PCr _{Rep} final	Correlación de Pearson	,097	,226	,264	1
	Sig. (bilateral)	,651	,288	,212	
	N	24	24	24	24

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

TABLA 9.21a Correlaciones de Vi %PCr para recuperación ejercicio incremental grupo FA

		Vi%PCr _{Rep}	pHifinal	pHimin	%PCr _{Rep} final
Vi%PCr _{Rep}	Correlación de Pearson	1	,075	,005	-,169
	Sig. (bilateral)		,817	,988	,599
	N	12	12	12	12
pHifinal	Correlación de Pearson	,075	1	,749(**)	,128
	Sig. (bilateral)	,817		,005	,692
	N	12	12	12	12
pHimin	Correlación de Pearson	,005	,749(**)	1	-,017
	Sig. (bilateral)	,988	,005		,958
	N	12	12	12	12
%PCr _{Rep} final	Correlación de Pearson	-,169	,128	-,017	1
	Sig. (bilateral)	,599	,692	,958	
	N	12	12	12	12

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

TABLA 9.21b Correlaciones de Vi %PCr para recuperación ejercicio incremental grupo C

		Vi%PCr _{Rep}	pHifinal	pHimin	%PCr _{Rep} final
Vi%PCr _{Rep}	Correlación de Pearson	1	,317	,079	-,526
	Sig. (bilateral)		,315	,806	,079
	N	12	12	12	12
pHifinal	Correlación de Pearson	,317	1	,647(*)	,382
	Sig. (bilateral)	,315		,023	,220
	N	12	12	12	12
pHimin	Correlación de Pearson	,079	,647(*)	1	,218
	Sig. (bilateral)	,806	,023		,496
	N	12	12	12	12
%PCr _{Rep} final	Correlación de Pearson	-,526	,382	,218	1
	Sig. (bilateral)	,079	,220	,496	
	N	12	12	12	12

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

TABLA 9.22 Valores de Vi [PCr] en la recuperación

Variable	GLOBAL N = 48			FISICAMENTE ACTIVOS N = 24			CONTROL N = 24		
	Media ± SEM	Máximo	Mínimo	Media ± SEM	Máximo	Mínimo	Media ± SEM	Máximo	Mínimo
Vi[PCr] I	34,435 ± 2,664	58,847	12,923	40,958 ± 3,672	58,847	22,822	27,911 ± 2,908	48,407	12,923
Vi[PCr] CT	29,384 ± 2,611	54,976	12,467	34,695 ± 4,203	54,976	12,467	24,073 ± 6,035	40,965	13,817
Variable	GLOBAL N = 48			EJERCICIO INCREMENTAL N = 24			EJERCICIO CONSTANTE N = 24		
	Media ± SEM	Máximo	Mínimo	Media ± SEM	Máximo	Mínimo	Media ± SEM	Máximo	Mínimo
Vi[PCr] FA	37,827 ± 2,806**	58,847	12,467	40,958 ± 3,672*	58,847	22,822	34,695 ± 4,2033*	54,976	12,467
Vi[PCr] C	25,992 ± 1,884**	48,407	12,923	27,911 ± 2,908*	48,407	12,923	24,073 ± 6,035*	40,965	13,817

T de Student entre FA/C *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

T pareada entre I/CT ^ap<0,05, ^{aa}p<0,01, ^{aaa}p<0,001

TABLA 9.23a Correlaciones de Vi [PCr] para recuperación ejercicio incremental

		Vi[PCr]	pHifinal	pHimin	%PCr _{Rep} final
Vi[PCr]	Correlación de Pearson	1	,566(**)	,341	,203
	Sig. (bilateral)		,004	,103	,342
	N	24	24	24	24
pHifinal	Correlación de Pearson	,566(**)	1	,832(**)	,560(**)
	Sig. (bilateral)	,004		,000	,004
	N	24	24	24	24
pHimin	Correlación de Pearson	,341	,832(**)	1	,474(*)
	Sig. (bilateral)	,103	,000		,019
	N	24	24	24	24
%PCr _{Rep} final	Correlación de Pearson	,203	,560(**)	,474(*)	1
	Sig. (bilateral)	,342	,004	,019	
	N	24	24	24	24

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

TABLA 9.23b Correlaciones de Vi [PCr] para recuperación ejercicio constante

		Vi[PCr]	pHifinal	pHimin	%PCr _{Rep} final
Vi[PCr]	Correlación de Pearson	1	,441(*)	,324	-,219
	Sig. (bilateral)		,031	,123	,303
	N	24	24	24	24
pHifinal	Correlación de Pearson	,441(*)	1	,831(**)	,226
	Sig. (bilateral)	,031		,000	,288
	N	24	24	24	24
pHimin	Correlación de Pearson	,324	,831(**)	1	,264
	Sig. (bilateral)	,123	,000		,212
	N	24	24	24	24
%PCr _{Rep} final	Correlación de Pearson	-,219	,226	,264	1
	Sig. (bilateral)	,303	,288	,212	
	N	24	24	24	24

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

TABLA 9.24a Correlaciones de Vi [PCr] para recuperación ejercicio incremental grupo FA

		Vi[PCr]	pHifinal	pHimin	%PCr _{Rep} final
Vi[PCr]	Correlación de Pearson	1	,039	-,183	-,240
	Sig. (bilateral)		,904	,569	,452
	N	12	12	12	12
pHifinal	Correlación de Pearson	,039	1	,749(**)	,128
	Sig. (bilateral)	,904		,005	,692
	N		12	12	12
pHimin	Correlación de Pearson	-,183	,749(**)	1	-,017
	Sig. (bilateral)	,569	,005		,958
	N	12	12	12	12
%PCr _{Rep} final	Correlación de Pearson	-,240	,128	-,017	1
	Sig. (bilateral)	,452	,692	,958	
	N	12	12	12	12

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

TABLA 9.24b Correlaciones de Vi [PCr] para recuperación ejercicio incremental grupo C

		Vi[PCr]	pHifinal	pHimin	%PCr _{Rep} final
Vi[PCr]	Correlación de Pearson	1	,601(*)	,177	,019
	Sig. (bilateral)		,039		,953
	N	12	12	12	12
pHifinal	Correlación de Pearson	,601(*)	1	,647(*)	,382
	Sig. (bilateral)	,039		,023	,220
	N	12	12	12	12
pHimin	Correlación de Pearson	,177	,647(*)	1	,218
	Sig. (bilateral)	,582	,023		,496
	N	12	12	12	12
%PCr _{Rep} final	Correlación de Pearson	,019	,382	,218	1
		,953	,220	,496	
	N	12	12	12	12

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

TABLA 9.25 Valores metabólicos de la recuperación ejercicio incremental

Variable	GLOBAL N = 24			FISICAMENTE ACTIVOS N = 12			CONTROL = 12		
	Reposo	Final ejercicio	Final recuperación	Reposo	Final ejercicio	Final recuperación	Reposo	Final ejercicio	Final recuperación
PCr/S	0,423±0,005	0,130±0,010	0,4252±0,006	0,424±0,006	0,158±0,013**	0,4251±0,006	0,422±0,009	0,101±0,008**	0,4253±0,011
%PCr_{rep}	100	30,75±2,36	100,4±0,5	100	37,67±3,37**	100,3±0,6	100	23,84±1,79**	100,6±0,8
Pi/PCr	0,169±0,008	3,132±0,327	0,161±0,016	0,160±0,010	2,189±0,273**	0,176±0,023	0,179±0,013	4,075±0,460**	0,146±0,023
Pi/S	0,072±0,004	0,342±0,013	0,057±0,006	0,068±0,004	0,308±0,014**	0,068±0,008	0,076±0,007	0,375±0,018**	0,047±0,007
%Pi_{rep}	100	504,49±31,80		100	477,17±39,70		100	531,82±50,17	

T de Student entre FA/C *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

TABLA 9.26 Valores metabólicos de la recuperación ejercicio constante

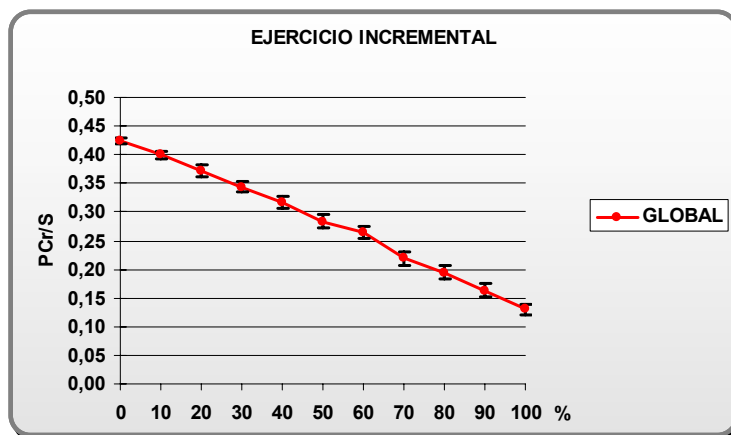
Variable	GLOBAL N = 24			FISICAMENTE ACTIVOS N = 12			CONTROL = 12		
	Reposo	Final ejercicio	Final recuperación	Reposo	Final ejercicio	Final recuperación	Reposo	Final ejercicio	Final recuperación
PCr/S	0,429±0,008	0,213±0,011		0,433±0,011	0,234±0,018		0,425±0,013	0,192±0,011	
%PCr_{rep}	100	49,60±2,40	100,98±1,91	100	54,03±4,05*	94,86±1,95	100	45,18±2,03*	107,1±2,18
Pi/PCr	0,175±0,014	1,408±0,144		0,187±0,024	1,170±0,232		0,162±0,016	1,646±0,154	
Pi/S	0,074±0,005	0,270±0,017	0,066±0,005	0,078±0,008	0,233±0,021*	0,070±0,008	0,070±0,008	0,307±0,023*	0,062±0,007
%Pi_{rep}	100	383,2±23,2		100	307,7±26,5***		100	458,6±22,6***	

T de Student entre FA/C *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

9.2 GRAFICOS

CINÉTICA DEL PCr/S EN EL EJERCICIO INCREMENTAL (24 SUJETOS)

evolución	Variable dependiente
1	PCr_0
2	PCr_10
3	PCr_20
4	PCr_30
5	PCr_40
6	
7	PCr_60
8	PCr_70
	PCr_80
10	PCr_90
	PCr_100



ANOVA medidas repetidas Medida: PCr/S Pruebas de efectos intra-sujetos

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
evolucion	Greenhouse-Geisser	2,307	3,598	,641	167,156	,000
Error(evolución)	Greenhouse-Geisser	,317	82,743	,004		

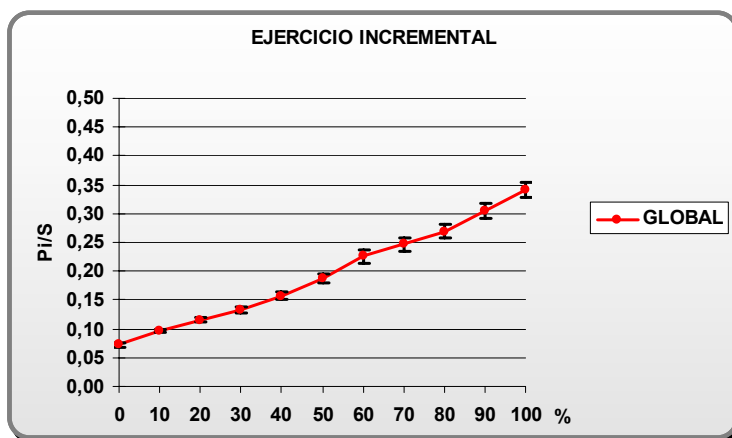
Medida: PCr/S Pruebas de contrastes intra-sujetos

Fuente	evolución	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
evolución	Nivel 1 - Nivel 2	,012	1	,012	9,826	,005
	Nivel 2 - Nivel 3	,018	1	,018	7,887	,010
	Nivel 3 - Nivel 4	,021	1	,021	11,454	,003
	Nivel 4 - Nivel 5	,018	1	,018	17,353	,000
	Nivel 5 - Nivel 6	,026	1	,026	19,968	,000
	Nivel 6 - Nivel 7		1	,008	8,866	,007
	Nivel 7 - Nivel 8	,050	1	,050	37,560	,000
	Nivel 8 - Nivel 9	,014	1	,014		,000
	Nivel 9 - Nivel 10	,023	1	,023	71,360	,000
	Nivel 10 - Nivel 11	,028	1	,028	13,157	,001
Error(evolución)	Nivel 1 - Nivel 2	,029	23	,001		
		,051	23	,002		
	Nivel 3 - Nivel 4	,042	23	,002		
	Nivel 4 - Nivel 5	,024	23	,001		
	Nivel 5 - Nivel 6	,030	23	,001		
	Nivel 6 - Nivel 7	,021	23	,001		
	Nivel 7 - Nivel 8	,030	23	,001		
	Nivel 8 - Nivel 9	,013	23	,001		
	Nivel 9 - Nivel 10	,008	23	,000		
	Nivel 10 - Nivel 11	,049	23	,002		

GRAFICO 9.1 CINÉTICA DEL PCr/S EN EL EJERCICIO INCREMENTAL (24 SUJETOS)

CINÉTICA DEL PI/S EN EL EJERCICIO INCREMENTAL (24 SUJETOS)

evolución	Variable dependiente
1	Pi_0
2	Pi_10
3	Pi_20
4	Pi_30
5	Pi_40
6	Pi_50
7	Pi_60
8	Pi_70
9	Pi_80
10	Pi_90
11	Pi_100



ANOVA medidas repetidas Medida: Pi/S Pruebas de efectos intra-sujetos

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
evolucion	Greenhouse-Geisser	1,902	2,254	,844		,000
Error(evolución)	Greenhouse-Geisser	,219	51,844	,004		

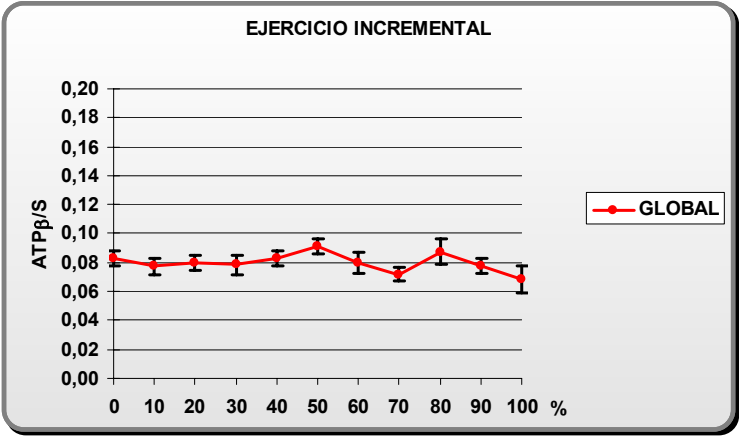
Medida: Pi/S Pruebas de contrastes intra-sujetos

Fuente	evolución	Suma de cuadrados tipo III	gl	cuadrática	F	Significación
evolución	Nivel 1 - Nivel 2	,014	1	,014		,000
	Nivel 2 - Nivel 3		1	,009	28,598	,000
	Nivel 3 - Nivel 4		1	,007	12,894	,002
	Nivel 4 - Nivel 5	,015	1	,015	30,081	,000
	Nivel 5 - Nivel 6	,021	1	,021	18,856	,000
	Nivel 6 - Nivel 7	,036	1	,036	23,303	,000
	Nivel 7 - Nivel 8	,011	1	,011	35,272	,000
	Nivel 8 - Nivel 9	,012	1	,012	49,853	,000
	Nivel 9 - Nivel 10	,031	1	,031	64,773	,000
	Nivel 10 - Nivel 11	,032	1		30,317	,000
Error(evolución)	Nivel 1 - Nivel 2	,013		,001		
	Nivel 2 - Nivel 3	,008	23	,000		
	Nivel 3 - Nivel 4	,012	23	,001		
	Nivel 4 - Nivel 5	,011	23	,000		
	Nivel 5 - Nivel 6	,026	23	,001		
	Nivel 6 - Nivel 7	,035	23	,002		
	Nivel 7 - Nivel 8		23	,000		
	Nivel 8 - Nivel 9	,005	23	,000		
	Nivel 9 - Nivel 10	,011	23	,000		
	Nivel 10 - Nivel 11	,025	23	,001		

GRAFICO 9.2 CINÉTICA DEL PI/S EN EL EJERCICIO INCREMENTAL (24 SUJETOS)

CINÉTICA DEL ATPβ/S EN EL EJERCICIO INCREMENTAL (24 SUJETOS)

evolución	Variable dependiente
1	ATPb_0
2	ATPb_10
3	ATPb_20
4	ATPb_30
5	ATPb_40
6	ATPb_50
7	ATPb_60
8	ATPb_70
9	ATPb_80
10	ATPb_90
11	ATPb_100



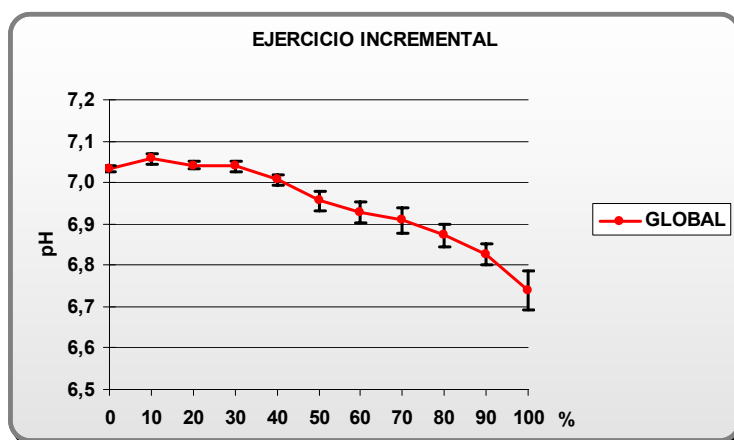
ANOVA medidas repetidas Medida: ATPb/S Pruebas de efectos intra-sujetos

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
	Greenhouse-Geisser	,010	4,036	,002	1,472	,217
Error(evolución)	Greenhouse-Geisser	,156	92,828	,002		

GRAFICO 9.3 CINÉTICA DEL ATPβ/S EN EL EJERCICIO INCREMENTAL (24 SUJETOS)

CINÉTICA DEL pHi EN EL EJERCICIO INCREMENTAL (24 SUJETOS)

evolución	Variable dependiente
1	pH_0
2	pH_10
3	pH_20
4	pH_30
5	pH_40
6	pH_50
7	pH_60
8	pH_70
9	pH_80
10	pH_90
11	pH_100



ANOVA medidas repetidas Medida: pHi Pruebas de efectos intra-sujetos

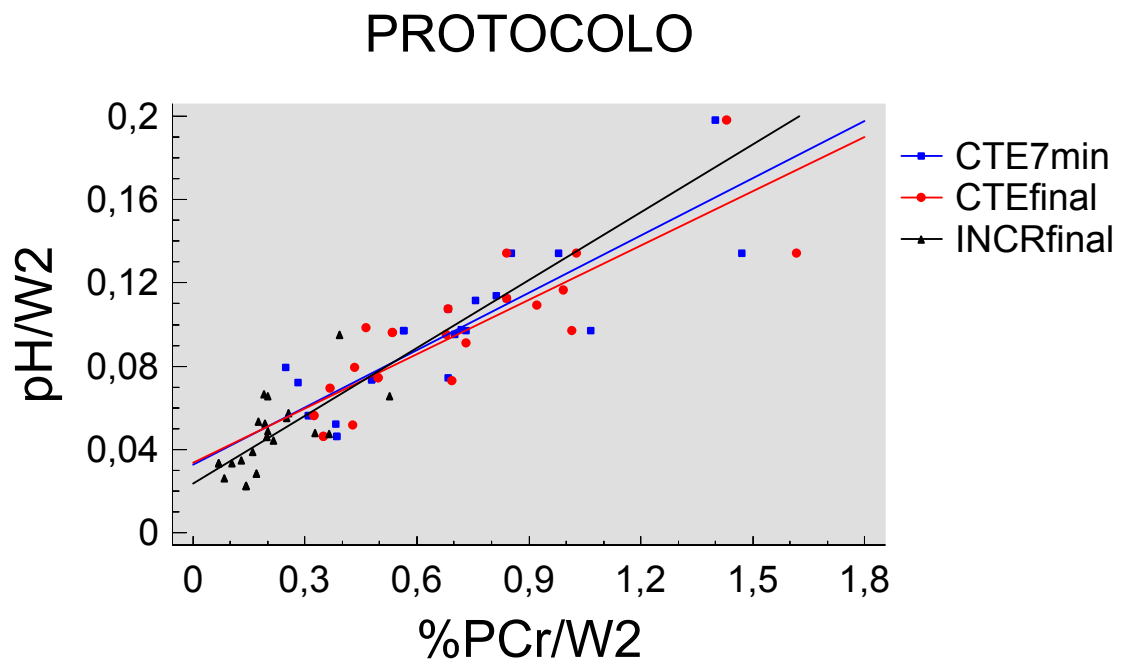
Fuente		cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
evolucion	Greenhouse-Geisser	2,553	2,449	1,043	30,254	,000
Error(evolución)	Greenhouse-Geisser	1,941	56,318	,034		

Medida: pHi Pruebas de contrastes intra-sujetos

Fuente	evolución	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
evolución	Nivel 1 - Nivel 2	,013	1	,013	3,442	,076
	Nivel 2 - Nivel 3	,005	1	,005	1,580	,221
	Nivel 3 - Nivel 4	,000	1	,000	,060	,808
	Nivel 4 - Nivel 5	,026	1	,026	6,899	,015
	Nivel 5 - Nivel 6	,060	1	,060	8,547	,008
	Nivel 6 - Nivel 7	,019	1	,019		,082
	Nivel 7 - Nivel 8	,008	1	,008	1,430	,244
	Nivel 8 - Nivel 9	,034	1	,034	4,820	,038
	Nivel 9 - Nivel 10	,051	1	,051	12,269	,002
	Nivel 10 - Nivel 11	,184	1	,184	8,653	,007
Error(evolución)	Nivel 1 - Nivel 2	,089	23	,004		
	Nivel 2 - Nivel 3	,079	23	,003		
	Nivel 3 - Nivel 4	,069	23	,003		
	Nivel 4 - Nivel 5	,087	23	,004		
	Nivel 5 - Nivel 6	,161	23	,007		
	Nivel 6 - Nivel 7	,131	23	,006		
	Nivel 7 - Nivel 8	,136	23	,006		
	Nivel 8 - Nivel 9	,162	23	,007		
	Nivel 9 - Nivel 10	,095	23	,004		
	Nivel 10 - Nivel 11	,488	23	,021		

GRAFICO 9.4 CINÉTICA DEL pHi EN EL EJERCICIO INCREMENTAL (24 SUJETOS)

COMPARACIÓN DE LAS PENDIENTES DEL EJERCICIO INCREMENTAL, EJERCICIO CONSTANTE A LOS 7 MINUTOS Y AL FINAL DEL EJERCICIO

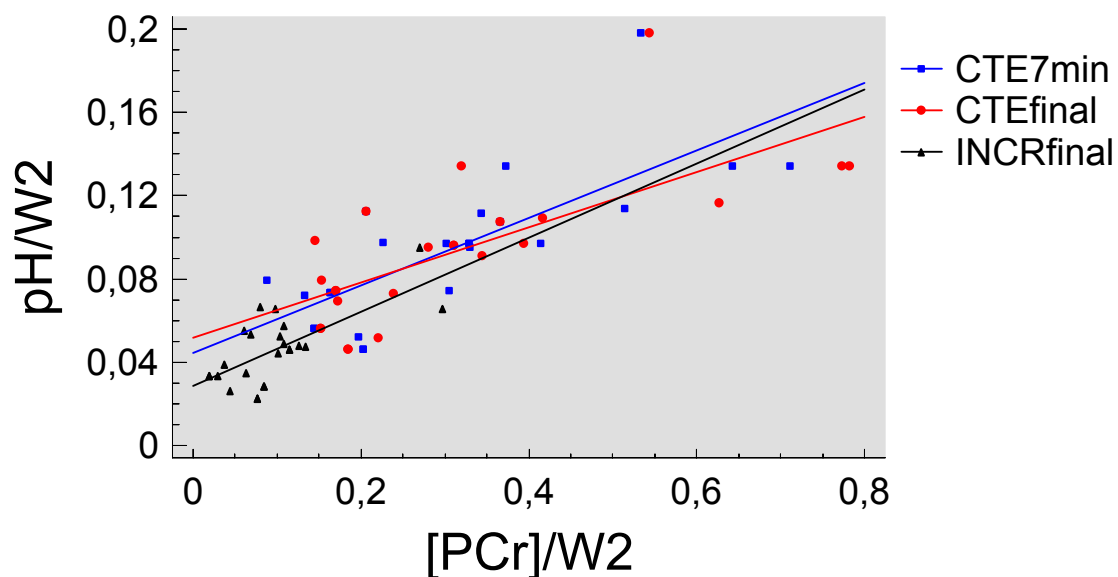


ANOVA para las Variables en el Orden Ajustado

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
%PCr/W ²	0,0812196		0,0812196	287,12	0,0000
Punto de corte	0,000340717	2	0,000170359	0,49	0,4901
Pendiente	0,000129135	2	0,0000645674	0,23	0,7966
Modelo	0,0816894	5			

GRAFICO 9.5A COMPARACIÓN DE LAS PENDIENTES ENTRE EJERCICIO INCREMENTAL, EJERCICIO CONSTANTE A LOS 7 MINUTOS Y AL FINAL DEL EJERCICIO.

PROTOCOLO



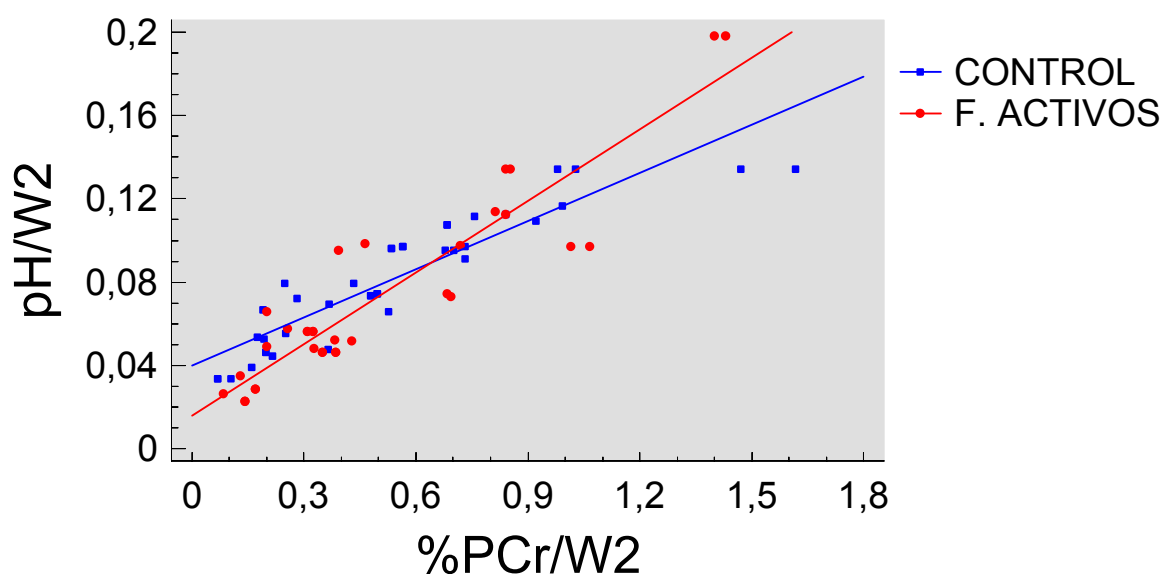
ANOVA para las Variables en el Orden Ajustado

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
$[\text{PCr}]/W2$	0,0678271	1	0,0678271	153,69	0,0000
Punto de corte	0,00299188	2	0,00149594	3,39	0,0397
Pendiente	0,000413611	2	0,000206805	0,47	0,6279
Modelo	0,0712326	5			

GRAFICO 9.5B COMPARACIÓN DE LAS PENDIENTES ENTRE EL EJERCICIO INCREMENTAL, EJERCICIO CONSTANTE A LOS 7 MINUTOS Y AL FINAL DEL EJERCICIO.

COMPARACIÓN DE LAS PENDIENTES DE LOS EJERCICIOS INCREMENTAL Y CONSTANTE CON RELACIÓN A LA ACTIVIDAD FÍSICA

INCREMENTAL + CONSTANTE



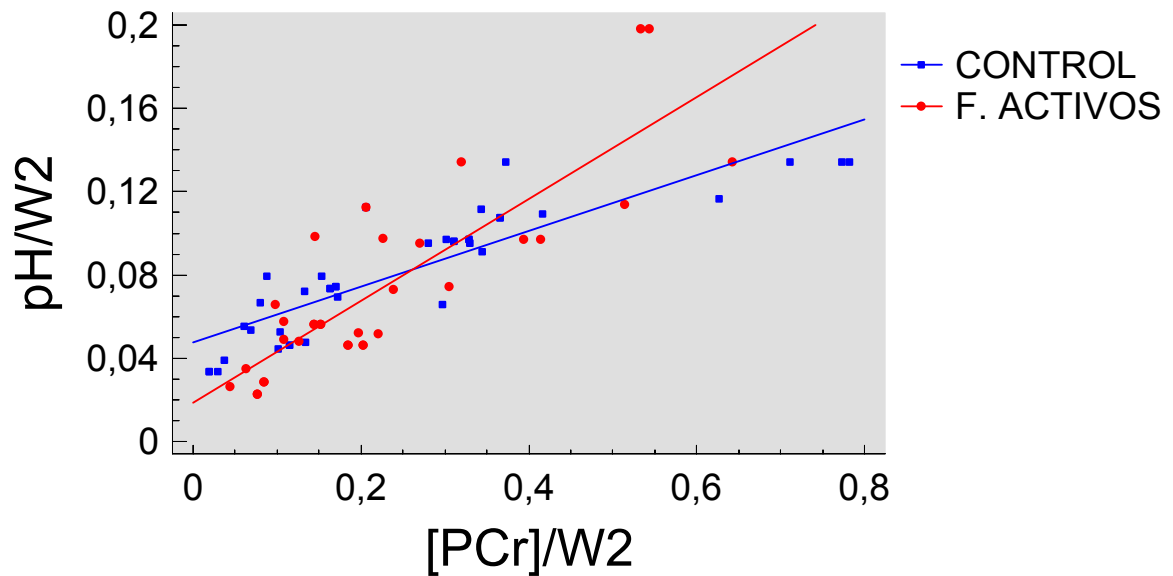
ANOVA para las Variables en el Orden Ajustado

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
%PCr/W ²	0,0812196	1	0,0812196		0,0000
Punto de corte	0,000409041	1	0,000409041	1,79	0,1857
Pendiente	0,00317025	1	0,00317025	13,85	0,0004***
Modelo		3			

***p < 0,001.

GRAFICO 9.6A COMPARACIÓN DE LAS PENDIENTES DE LOS EJERCICIOS INCREMENTAL Y CONSTANTE CON RELACIÓN A LA ACTIVIDAD FÍSICA

INCREMENTAL + CONSTANTE



ANOVA para las Variables en el Orden Ajustado

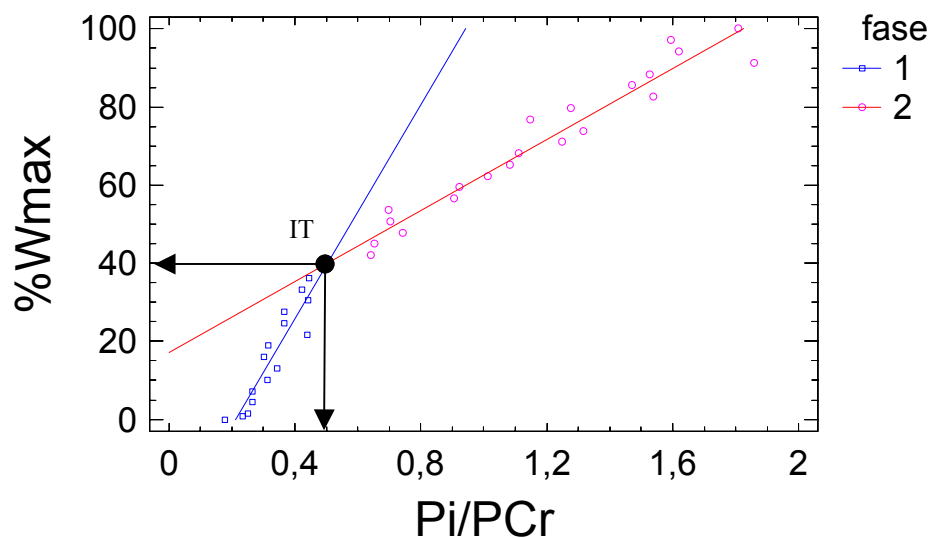
Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática		Sig.
[PCr]/W	0,0678271	1	0,0678271	177,01	0,0000
Punto de corte	0,000179651	1	0,000179651	0,47	0,4959
Pendiente	0,00629631	1	0,00629631	16,43	0,0001***
Modelo		3			

*** $p < 0,001$.

GRAFICO 9.6B COMPARACIÓN DE LAS PENDIENTES DE LOS EJERCICIOS INCREMENTAL Y CONSTANTE CON RELACIÓN A LA ACTIVIDAD FÍSICA.

Pi/PCr VERSUS %Wmax

Se han calculado por regresión lineal las dos rectas que mejor se aproximan a los puntos de Pi/PCr. Para la recta de la fase 1 se ha calculado, la pendiente denominada $\%W_{\max}/(Pi/PCr)$, el punto de cruce IT para Pi/PCr (IT_{pi/pcr}), y el punto de cruce IT para $\%W_{\max}$ (IT_{%W}).



Ejemplo del cálculo del IT para un sujeto de la muestra

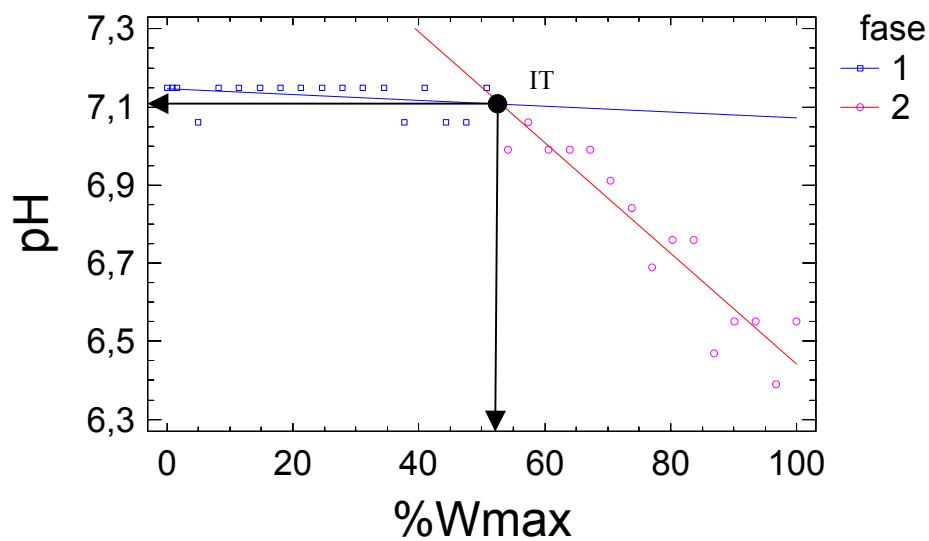
Variable	GLOBAL	GRUPO F. ACTIVOS	GRUPO CONTROL	p-valor con respecto a la ACTIVIDAD FISICA (t-student)
	Media \pm SEM	Media \pm SEM	Media \pm SEM	
IT %W	56,7197 \pm 2,8782	67,38 \pm 2,64 Rango 49,41-80,15	46,05 \pm 2,64 Rango 30,07-54,41	0,0000 ***
IT pi/pcr	0,680 \pm 0,029	0,723 \pm 0,039	0,636 \pm 0,039	0,1363
$\%W_{\max}/(Pi/PCr)$	114,089 \pm 7,71552	129,82 \pm 10,09	98,35 \pm 10,09	0,0383 *

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

GRÁFICO 9.7 UMBRALES IT PARA Pi/PCr

pHi VERSUS %Wmax

Se han calculado por regresión lineal las dos rectas que mejor se aproximen a los puntos de pH_i. Para la recta de la fase 1 se ha calculado, la pendiente pH_i/%Wmax (pend1pHi), el IT para pH_i (ITpHi), y el IT para %Wmax (ITpHi%W).



Ejemplo del cálculo del IT para un sujeto de la muestra

Variable	GLOBAL	GRUPO F. ACTIVOS	GRUPO CONTROL	p-valor con respecto a la ACTIVIDAD FISICA (t-student)
	Media \pm SEM	Media \pm SEM	Media \pm SEM	
ITpHi%W	60,57 \pm 4,60	76,30 \pm 4,67 Rango 59,10-99,0	44,84 \pm 4,67 Rango 15,18-57,46	0,0001 ***
ITpHi	7,004 \pm 0,009	7,017 \pm 0,012	6,990 \pm 0,012	0,1476
Pend1pHi	-0,00066 \pm 0,000166	-0,0005 \pm 0,0002	-0,0008 \pm 0,0002	0,3282

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

GRÁFICO 9.8 UMBRALES IT PARA pH_i

ESTUDIO DEL pH_i EN EL EJERCICIO INCREMENTAL

ANOVA de medidas repetidas con grupo FA/C (efectos intra-sujetos)

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Cinética	Greenhouse-Geisser	2,553	3,280	,778	41,311	,000
Cinética * FA/C	Greenhouse-Geisser	,581	3,280	,177	9,406	,000***
Error(Cinética)	Greenhouse-Geisser	1,360	72,170	,019		

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

pH _i	GRUPO F. ACTIVOS		GRUPO CONTROL		p-valor con respecto a la ACTIVIDAD FISICA (t-student)
	Media ± SEM	p-valor con el reposo (t-pareada)	Media ± SEM	p-valor con el reposo (t-pareada)	
reposo	7,0352 ± 0,00898	-	7,0317 ± 0,01189	-	0,812
final	6,9002 ± 0,03554	0,002 **	6,5765 ± 0,05441	0,000 ***	0,000 ^{aaa}

T pareada Rep/Fin *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

T student FA/C ^ap<0,05, ^{aa}p<0,01, ^{aaa}p<0,001

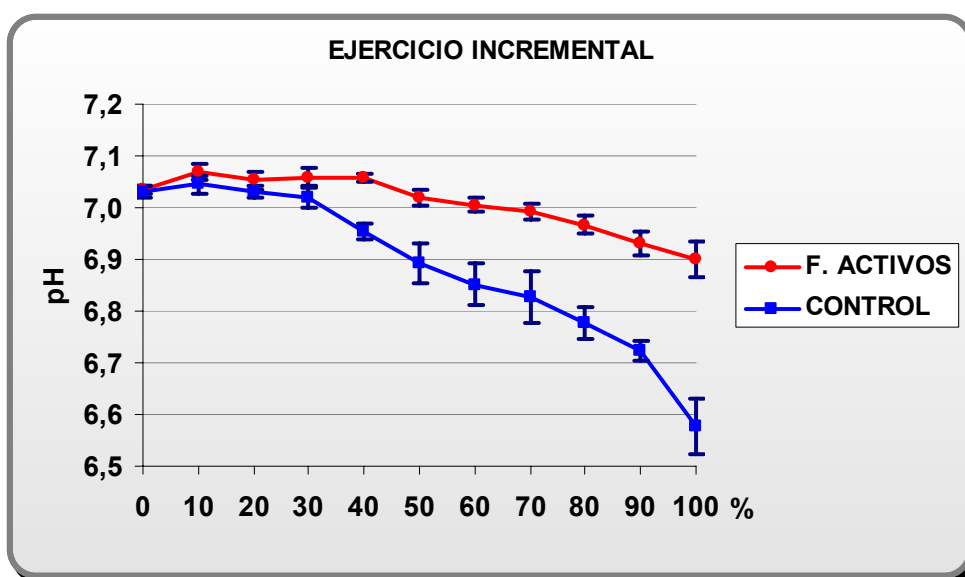


GRÁFICO 9.9 EJERCICIO INCREMENTAL CINÉTICA DEL pH_i

EJERCICIO INCREMENTAL CINÉTICA DEL PCr/S

ANOVA de medidas repetidas con grupo FA/C (efectos intra-sujetos)

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Cinética	Greenhouse-Geisser	2,307	4,473	,516		,000
Cinética * FA/C	Greenhouse-Geisser	,076	4,473	,017	6,975	,000***
Error(Cinética)	Greenhouse-Geisser	,241	98,406			

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

PCr/S	GRUPO F. ACTIVOS		GRUPO CONTROL		p-valor con respecto a la ACTIVIDAD FÍSICA (t-student)
	Media ± SEM	p-valor con el reposo (t-pareada)	Media ± SEM	p-valor con el reposo (t-pareada)	
reposo	0,4234 ± 0,00589	-	0,4224 ± 0,00909	-	0,927
final	0,1582 ± 0,01304	0,000 ***	0,1011 ± 0,00835	0,000 ***	0,002 aa

T pareada Rep/Fin *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

T student FA/C ^ap<0,05, ^{aa}p<0,01, ^{aaa}p<0,001

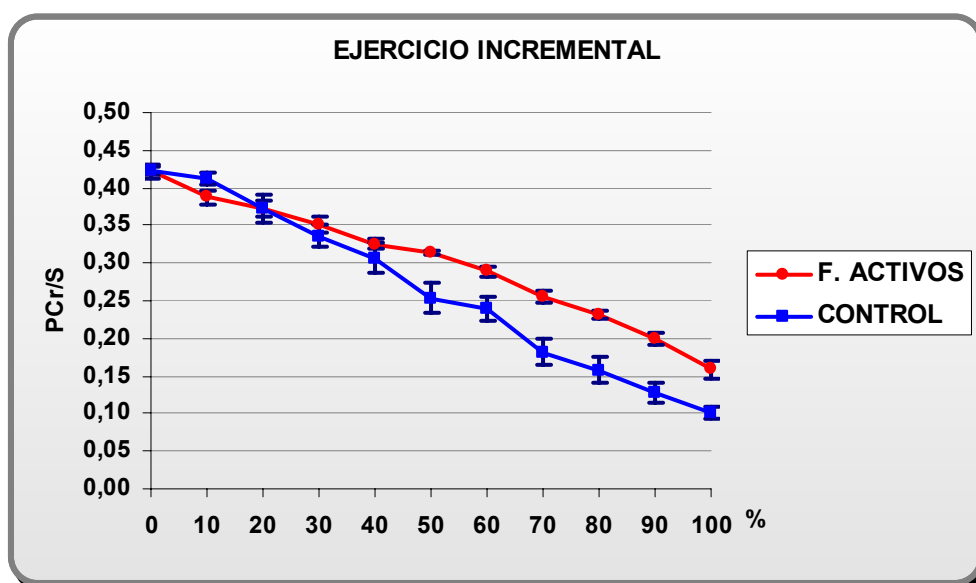


GRÁFICO 9.10 EJERCICIO INCREMENTAL CINÉTICA DEL PCr/S

EJERCICIO INCREMENTAL CINÉTICA DEL Pi/S

ANOVA de medidas repetidas con grupo FA/C (efectos intra-sujetos)

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Cinética	Greenhouse-Geisser	1,902	2,633	,722	237,477	,000
Cinética * FA/C	Greenhouse-Geisser	,042	2,633	,016	5,288	,004**
Error(Cinética)	Greenhouse-Geisser	,176	57,920	,003		

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

Pi/S	GRUPO F. ACTIVOS		GRUPO CONTROL		p-valor con respecto a la ACTIVIDAD FÍSICA (t-student)
	Media ± SEM	p-valor con el reposo (t-pareada)	Media ± SEM	p-valor con el reposo (t-pareada)	
reposo	0,0676 ± 0,00407	-	0,0762 ± 0,00674	-	0,290
final	0,3084 ± 0,01403	0,000 ***	0,3748 ± 0,01745	0,000 ***	0,007 aa

T pareada Rep/Fin *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

T student FA/C ap<0,05, aap<0,01, aaap<0,001

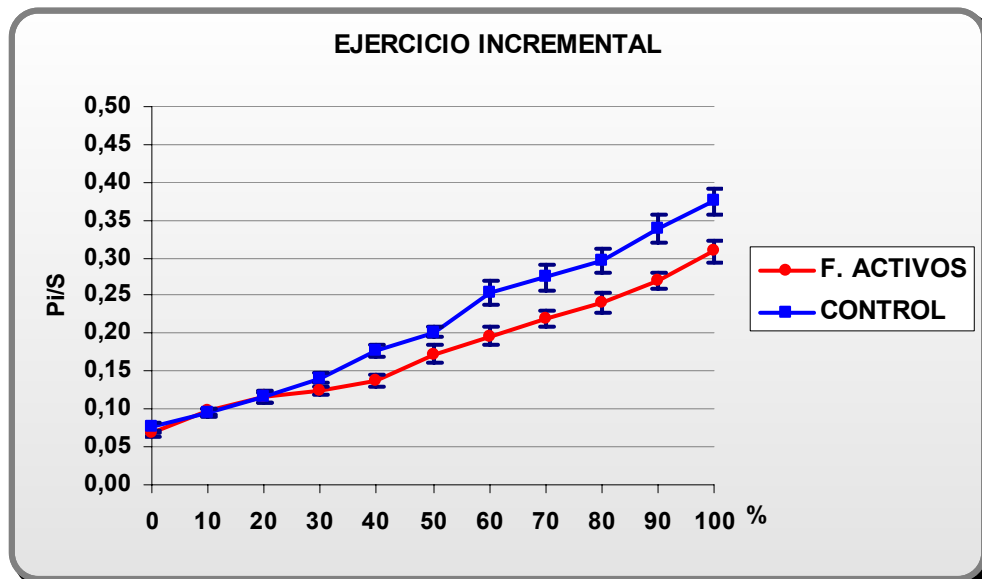


GRÁFICO 9.11 EJERCICIO INCREMENTAL CINÉTICA DEL Pi/S

EJERCICIO INCREMENTAL CINÉTICA DEL Pi/PCr

ANOVA de medidas repetidas con grupo FA/C (efectos intra-sujetos)

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Cinética	Greenhouse-Geisser	210,201	2,052	102,432	86,926	,000
Cinética * FA/C	Greenhouse-Geisser	27,229	2,052	13,269	11,260	,000***
Error(Cinética)	Greenhouse-Geisser	53,200	45,146			

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

Pi/PCr	GRUPO F. ACTIVOS		GRUPO CONTROL		p-valor con respecto a la ACTIVIDAD FISICA (t-student)
	Media \pm SEM	p-valor con el reposo (t-pareada)	Media \pm SEM	p-valor con el reposo (t-pareada)	
reposo	0,158 \pm 0,011704	-	0,17858 \pm 0,013252	-	0,257
final	2,18933 \pm 0,273485	0,000 ***	4,07483 \pm 0,460121	0,000 ***	0,002 aa

T pareada Rep/Fin *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

T student FA/C ^ap<0,05, ^{aa}p<0,01, ^{aaa}p<0,001

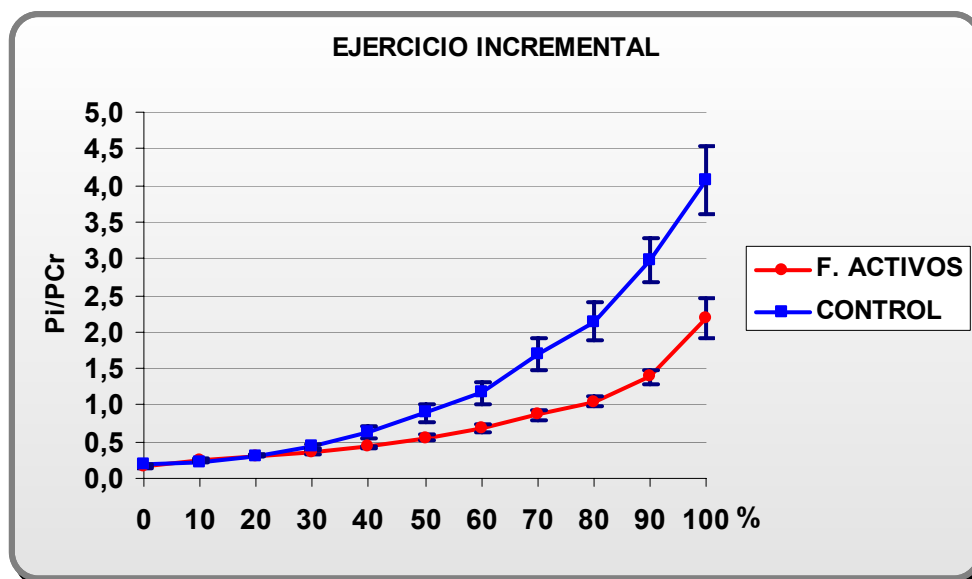


GRÁFICO 9.12 EJERCICIO INCREMENTAL CINÉTICA DEL Pi/PCr

EJERCICIO INCREMENTAL CINÉTICA DEL %PCr_{rep}

ANOVA de medidas repetidas con grupo FA/C (efectos intra-sujetos)

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Cinética	Greenhouse-Geisser	129088,415	4,505	28653,829	217,633	,000
Cinética * FA/C	Greenhouse-Geisser	4530,380	4,505	1005,611	7,638	,000***
Error(Cinética)	Greenhouse-Geisser	13049,228	99,112	131,661		

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

%PCr _{rep}	GRUPO F. ACTIVOS		GRUPO CONTROL		p-valor con respecto a la ACTIVIDAD FISICA (t-student)
	Media ± SEM	p-valor con el reposo (t-pareada)	Media ± SEM	p-valor con el reposo (t-pareada)	
reposo	100 ± 0	-	100 ± 0	-	
final	37,64633 ± 3,380121	0,000 ***	23,841 ± 1,791286	0,000 ***	0,002 aa

T pareada Rep/Fin *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

T student FA/C ^ap<0,05, ^{aa}p<0,01, ^{aaa}p<0,001

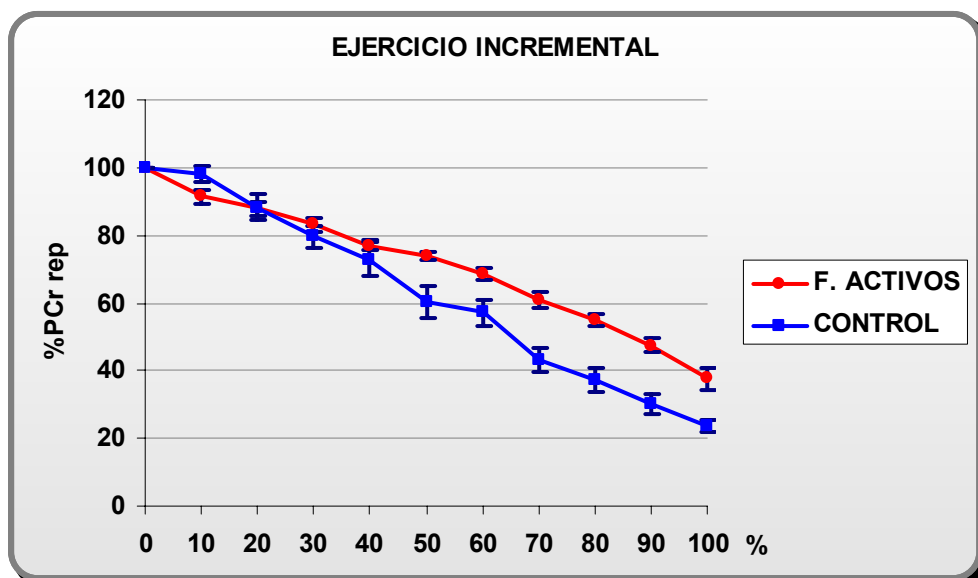


GRÁFICO 9.13 EJERCICIO INCREMENTAL CINÉTICA DEL %PCr_{REP}

EJERCICIO INCREMENTAL CINÉTICA DEL %Pi_{rep}

ANOVA de medidas repetidas con grupo FA/C (efectos intra-sujetos)

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Cinética	Greenhouse-Geisser	4250854,896	1,666	2551320,472	115,888	,000***
Cinética * FA/C	Greenhouse-Geisser	56916,930	1,666	34160,971	1,552	,227
Error(Cinética)	Greenhouse-Geisser	806978,287	36,655	22015,467		

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Intersección	1987323,769	1	1987323,769	285,808	,000
FA/C	5724,161	1	5724,161	,823	,374
Error	152973,909	22	6953,360		

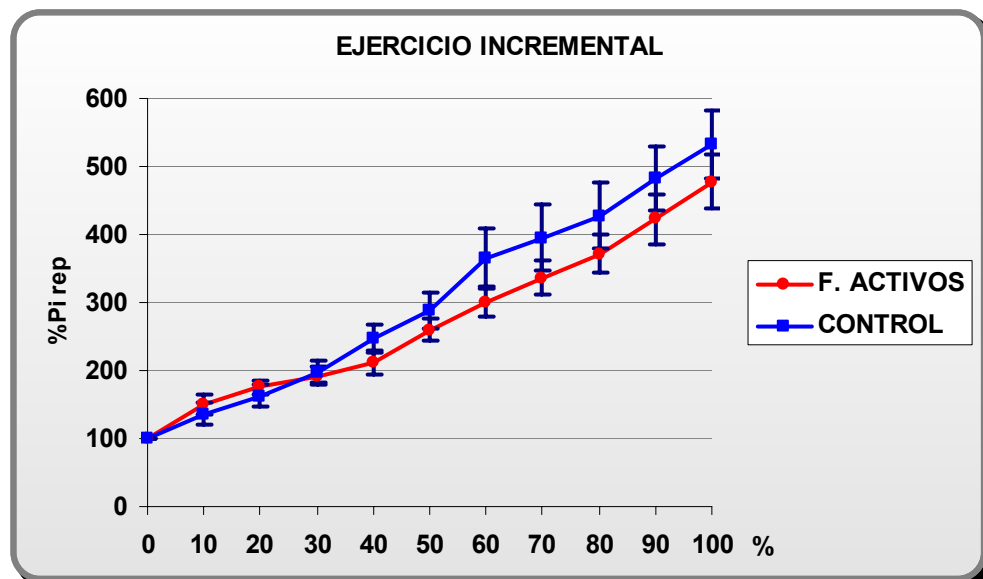


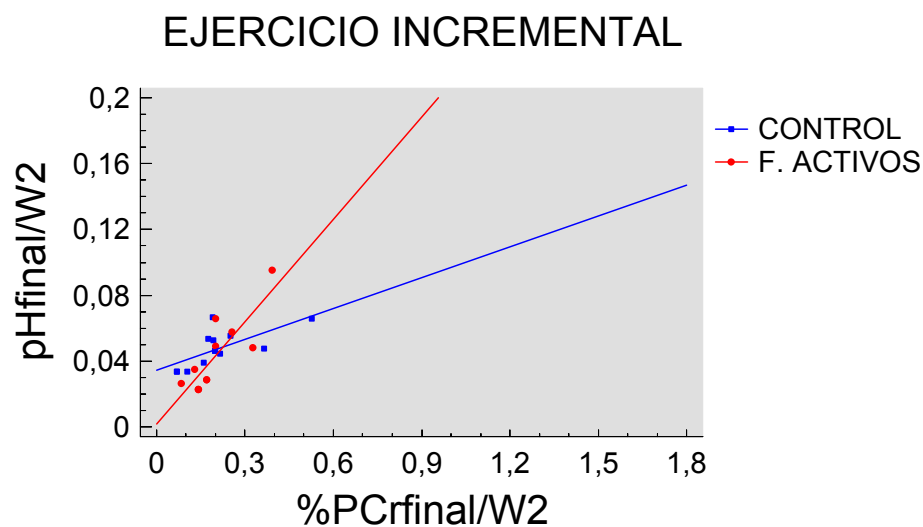
GRÁFICO 9.14 EJERCICIO INCREMENTAL CINÉTICA DEL %Pi_{REP}

INTERRELACIÓN ENTRE pH_i y %PC_r AL FINAL DEL EJERCICIO INCREMENTAL

Se ha estudiado la regresión lineal entre el pH_i al final del ejercicio normalizado con el trabajo al cuadrado ($\text{pH}_{\text{final}}/W^2$) con el porcentaje de PC_{r_{rep}} al final del mismo y también normalizado con W^2 ($\%\text{PCr}_{\text{final}}/W^2$). Se han obtenido las rectas de regresión para el grupo FA y para el C, y su coeficiente de correlación r .

Para FA: $\text{pH}_{\text{final}}/W^2 = 0,00179627 + 0,207189 \cdot \%\text{Pcr}_{\text{final}}/W^2$ ($r = 0,838185$)

Para C: $\text{pH}_{\text{final}}/W^2 = 0,0343847 + 0,0625403 \cdot \%\text{Pcr}_{\text{final}}/W^2$ ($r = 0,625403$)



Se comparan las dos rectas de regresión anteriores, obteniéndose:

ANOVA para las Variables en el Orden Ajustado

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
$\%\text{PCr}_{\text{final}}/W^2$	0,00312503	1	0,00312503	27,05	0,0000
Punto de corte	0,0000570892	1	0,0000570892	0,49	0,4901
Pendiente	0,00119216	1	0,00119216	10,32	0,0044**
Modelo	0,00437427	3			

** $p < 0,01$.

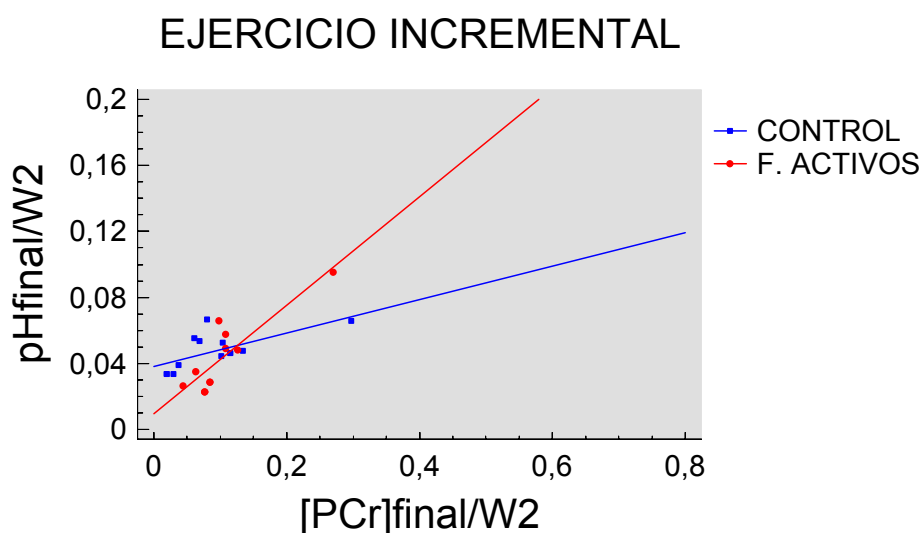
GRÁFICO 9.15A. pH_i/W² vs %PC_r/W² AL FINAL DEL EJERCICIO INCREMENTAL

INTERRELACIÓN ENTRE pHi y [PCr] AL FINAL DEL EJERCICIO INCREMENTAL

Se ha estudiado la regresión lineal entre el pHi al final del ejercicio normalizado con el trabajo al cuadrado (pHi_{final}/W^2) con la concentración de PCr al final del mismo y también normalizado con W^2 ($[PCr]_{final}/W^2$). Se han obtenido las rectas de regresión para el grupo FA y para el C, y su coeficiente de correlación r

Para FA $pHi_{final}/W^2 = 0,00946082 + 0,328742*[PCr]_{final}/W^2$ ($r = 0,871299$)

Para C $pHi_{final}/W^2 = 0,0382301 + 0,101394*[PCr]_{final}/W^2$ ($r = 0,662316$)



Se comparan las dos rectas de regresión anteriores, obteniéndose:

ANOVA para las Variables en el Orden Ajustado

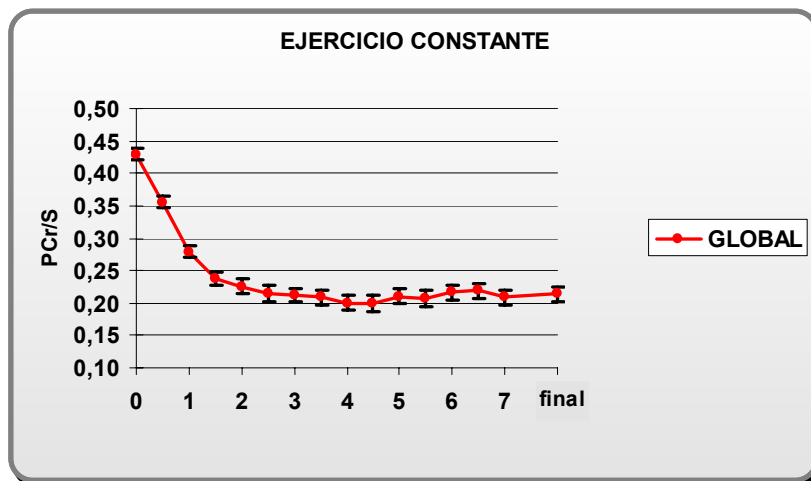
Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
$[PCr]_{final}/W^2$	0,0032007	1	0,0032007	30,94	0,0000
Punto de corte	0,000228996	1	0,000228996	2,21	0,1524
Pendiente	0,00118607		0,00118607	11,47	0,0029**
Modelo	0,00461576	3			

** $p < 0,01$.

GRÁFICO 9.15B. pHi/W^2 vs $[PCr]/W^2$ AL FINAL DEL EJERCICIO INCREMENTAL

CINÉTICA DEL PCr/S EN EL EJERCICIO CONSTANTE (24 SUJETOS)

cinetica	Variable dependiente
1	PCr_0
2	PCr_0.5
3	PCr_1
4	PCr_1.5
5	PCr_2
6	PCr_2.5
7	PCr_3
8	PCr_3.5
9	PCr_4
10	PCr_4.5
11	PCr_5
12	PCr_5.5
13	PCr_6
14	PCr_6.5
15	PCr_7
16	PCr_fin



ANOVA medidas repetidas Medida: PCr/S Pruebas de efectos intra-sujetos

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
cinetica	Greenhouse-Geisser	1,467	4,454	,329	107,696	,000
Error(cinetica)	Greenhouse-Geisser	,313	102,434	,003		

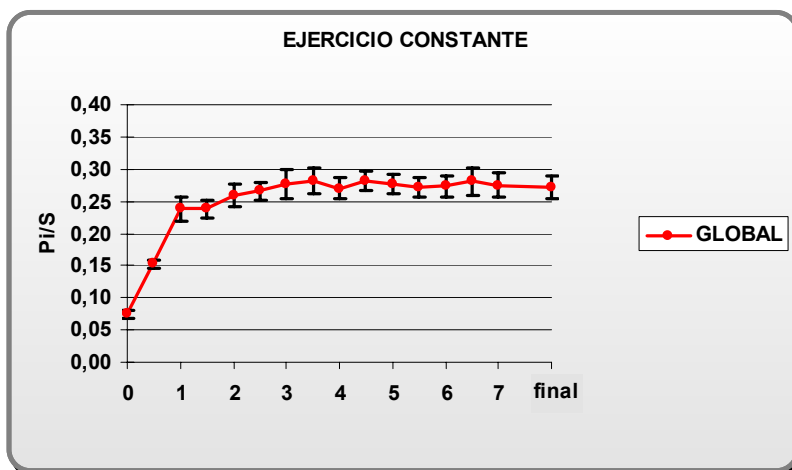
Medida: PCr/S Pruebas de contrastes intra-sujetos

Fuente	evolución	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
cinetica	Nivel 1 - Nivel 2	,130	1	,130	65,479	,000
	Nivel 2 - Nivel 3	,143	1	,143	118,903	,000
	Nivel 3 - Nivel 4	,040	1	,040	49,822	,000
	Nivel 4 - Nivel 5	,004		,004	2,104	,160
	Nivel 5 - Nivel 6	,003	1	,003	2,705	,114
	Nivel 6 - Nivel 7	,000	1	,000	,312	,582
	Nivel 7 - Nivel 8	,000	1	,000	,367	,550
	Nivel 8 - Nivel 9	,002	1	,002	1,514	,231
	Nivel 9 - Nivel 10	3,883E-06	1	3,883E-06	,004	,948
	Nivel 10 - Nivel 11	,003	1	,003	3,937	,059
	Nivel 11 - Nivel 12	,000	1	,000	,500	,486
	Nivel 12 - Nivel 13	,002	1	,002	3,531	,073
	Nivel 13 - Nivel 14	,000	1	,000	,064	,803
	Nivel 14 - Nivel 15	,002	1	,002	3,806	,063
	Nivel 15 - Nivel 16	,000	1	,000	,387	,540

GRAFICO 9.16 CINÉTICA DEL PCr/S EN EL EJERCICIO CONSTANTE (24 SUJETOS)

CINÉTICA DEL Pi/S EN EL EJERCICIO CONSTANTE (24 SUJETOS)

cinetica	Variable dependiente
1	
2	Pi_0.5
3	Pi_1
4	Pi_1.5
5	Pi_2
6	Pi_2.5
7	Pi_3
8	Pi_3.5
9	Pi_4
10	Pi_4.5
11	Pi_5
12	Pi_5.5
13	Pi_6
14	Pi_6.5
15	Pi_7
16	Pi_fin



ANOVA medidas repetidas Medida: Pi/S Pruebas de efectos intra-sujetos

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
cinetica	Greenhouse-Geisser	1,143	4,385	,261	46,057	,000
Error(cinetica)	Greenhouse-Geisser	,571	100,859	,006		

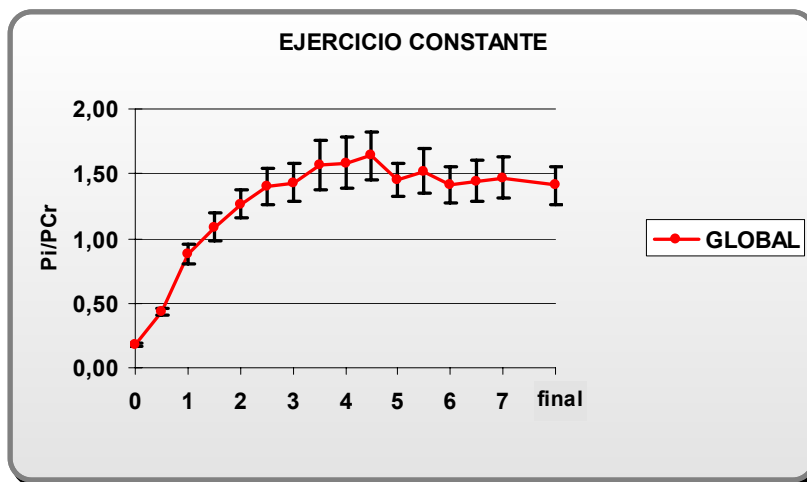
Medida: Pi/S Pruebas de contrastes intra-sujetos

Fuente	evolución	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
cinetica	Nivel 1 - Nivel 2	,145	1	,145	229,337	,000
	Nivel 2 - Nivel 3	,177	1	,177	28,757	,000
	Nivel 3 - Nivel 4	2,404E-06	1	2,404E-06	,000	,985
	Nivel 4 - Nivel 5	,010	1	,010	5,895	,023
	Nivel 5 - Nivel 6	,001	1	,001	,542	,469
	Nivel 6 - Nivel 7	,003	1	,003	,553	,465
	Nivel 7 - Nivel 8	,001	1	,001		,580
	Nivel 8 - Nivel 9	,003	1	,003	2,488	
	Nivel 9 - Nivel 10	,003	1	,003	2,636	,118
	Nivel 10 - Nivel 11	,001	1	,001	,463	,503
	Nivel 11 - Nivel 12	,000	1	,000	,220	,643
	Nivel 12 - Nivel 13	1,037E-05	1	1,037E-05	,009	,925
	Nivel 13 - Nivel 14	,001	1	,001	,400	,533
	Nivel 14 - Nivel 15	,001	1	,001	,522	,477
	Nivel 15 - Nivel 16	,000	1	,000	,142	,709

GRAFICO 9.17 CINÉTICA DEL Pi/S EN EL EJERCICIO CONSTANTE (24 SUJETOS)

CINÉTICA DEL Pi/PCr EN EL EJERCICIO CONSTANTE (24 SUJETOS)

cinetica	Variable dependiente
1	Pi/Pcr_0
2	Pi/Pcr_0.5
3	Pi/Pcr_1
4	Pi/Pcr_1.5
5	Pi/Pcr_2
6	Pi/Pcr_2.5
7	Pi/Pcr_3
8	Pi/Pcr_3.5
9	Pi/Pcr_4
10	Pi/Pcr_4.5
12	Pi/Pcr_5
13	Pi/Pcr_5.5
14	Pi/Pcr_6
15	Pi/Pcr_6.5
16	Pi/Pcr_fin



ANOVA medidas repetidas Medida: Pi/PCr Pruebas de efectos intra-sujetos

Fuente		Suma de cuadrados tipo III		Media cuadrática	F	Significación
cinetica	Greenhouse-Geisser	63,619	3,340	19,047	29,826	,000
Error(cinetica)	Greenhouse-Geisser	49,059		,639		

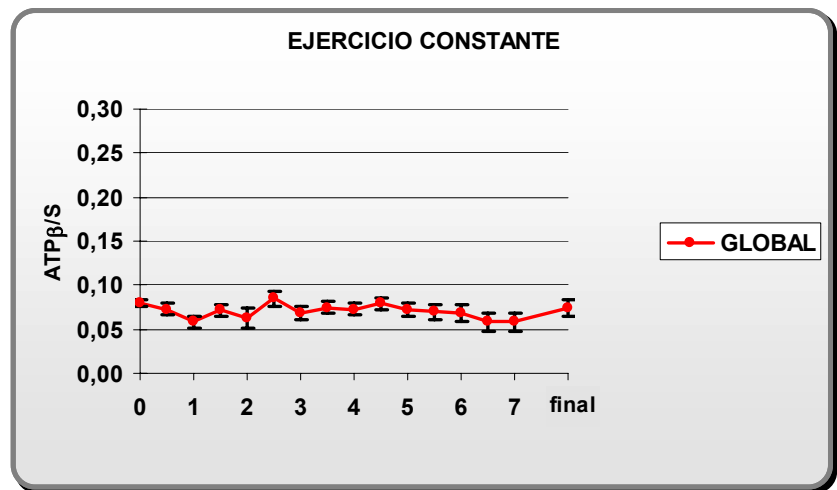
Medida: Pi/PCr Pruebas de contrastes intra-sujetos

Fuente	evolución	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
cinetica	Nivel 1 - Nivel 2	1,600	1	1,600	244,951	,000
	Nivel 2 - Nivel 3	4,856	1	4,856	49,323	,000
	Nivel 3 - Nivel 4	1,005	1	1,005	6,614	,017
	Nivel 4 - Nivel 5	,763	1	,763	5,104	,034
	Nivel 5 - Nivel 6	,455	1	,455	7,377	,012
	Nivel 6 - Nivel 7	,016	1	,016	,172	,682
	Nivel 7 - Nivel 8	,437	1	,437	3,004	,096
	Nivel 8 - Nivel 9	,010	1	,010	,025	,877
	Nivel 9 - Nivel 10	,073	1	,073	,331	,570
	Nivel 10 - Nivel 11	,849	1	,849	3,460	,076
	Nivel 11 - Nivel 12	,102	1	,102	,401	,533
	Nivel 12 - Nivel 13	,269	1	,269	1,811	,192
	Nivel 13 - Nivel 14	,027	1	,027	,197	,661
	Nivel 14 - Nivel 15	,016	1	,016	,377	,545
	Nivel 15 - Nivel 16	,093	1	,093	,425	,521

GRAFICO 9.18 CINÉTICA DEL Pi/PCr EN EL EJERCICIO CONSTANTE (24 SUJETOS)

CINÉTICA DEL ATPβ/S EN EL EJERCICIO CONSTANTE (24 SUJETOS)

cinetica	Variable dependiente
1	ATPb_0
2	ATPb_0.5
3	ATPb_1
4	ATPb_1.5
5	ATPb_2
6	ATPb_2.5
7	ATPb_3
8	ATPb_3.5
9	ATPb_4
10	ATPb_4.5
	ATPb_5
12	ATPb_5.5
13	ATPb_6
14	ATPb_6.5
15	ATPb_7
16	ATPb_fin



ANOVA medidas repetidas Medida: ATPβ/S Pruebas de efectos intra-sujetos

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
cinetica	Greenhouse-Geisser	,023	5,792	,004	1,736	
Error(cinetica)	Greenhouse-Geisser	,299	133,215	,002		

GRAFICO 9.19 CINÉTICA DEL ATPβ/S EN EL EJERCICIO CONSTANTE (24 SUJETOS)

Cinética de PCr/S ejercicio constante

ANOVA de medidas repetidas 3m-7m-final con FA/C (efectos intra-sujetos)

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Cinética	Greenhouse-Geisser	,000	1,903	,000	,170	,834
Cinética * FA/C	Greenhouse-Geisser	,001	1,903	,001	1,025	,365
Error(cine)	Greenhouse-Geisser	,028	41,874	,001		

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Intersección	1,073	1	1,073	514,183	,000
FA/C	,012	1	,012	5,835	,024*
Error	,046	22	,002		

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

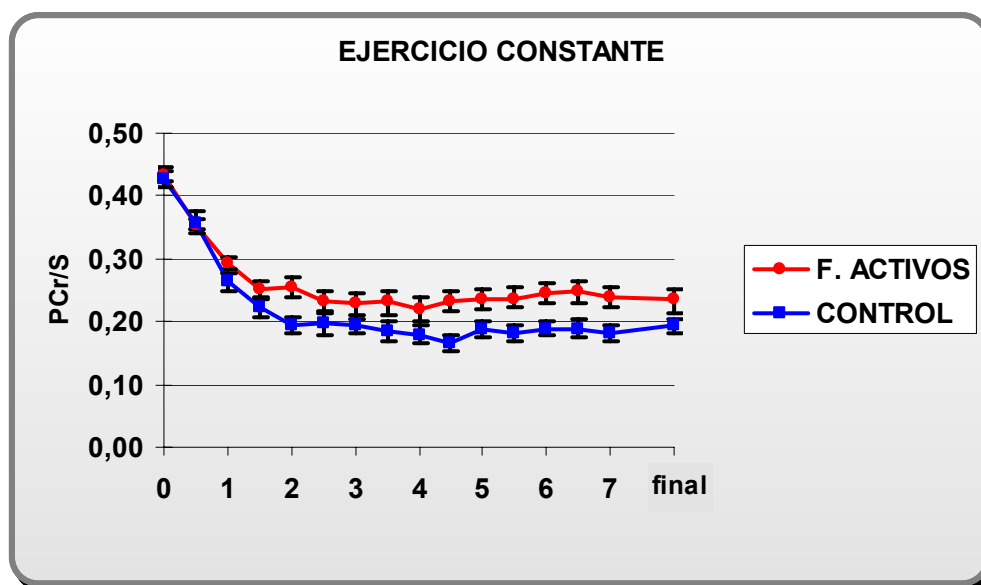


GRÁFICO 9.20. EJERCICIO CONSTANTE CINÉTICA DEL PCr/S

EJERCICIO CONSTANTE Cinética del Pi/S

ANOVA de medidas repetidas 3m-7m-final con FA/C (efectos intra-sujetos)

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Cinética	Greenhouse-Geisser	,000	1,760	,000	,085	,897
Cinética * FA/C	Greenhouse-Geisser	,005	1,760	,003	1,132	,327
Error(cine)	Greenhouse-Geisser	,094	38,722			

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Intersección	1,799	1	1,799	302,983	,000
FA/C	,056	1	,056	9,481	,005**
Error	,131	22	,006		

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

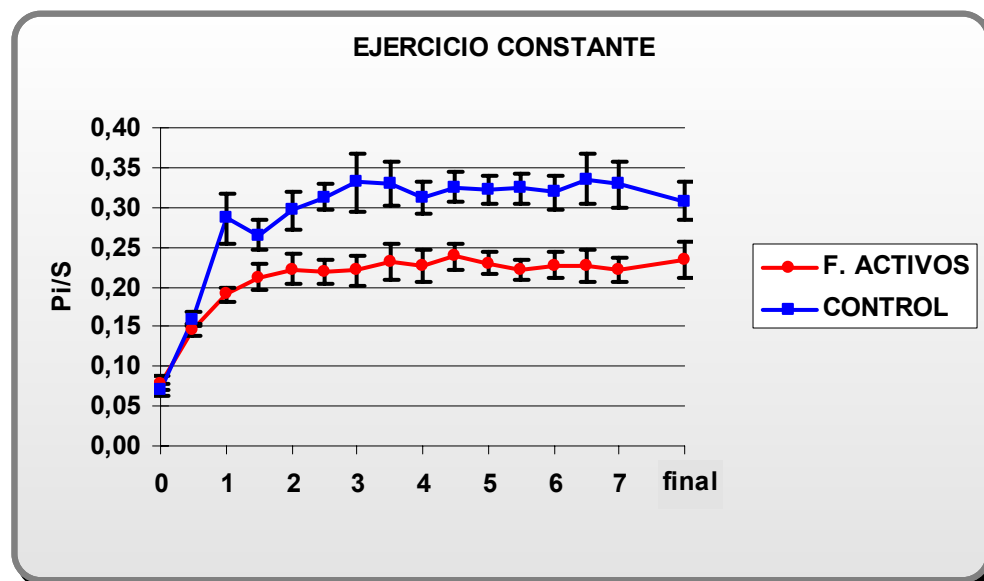


GRÁFICO 9.21. EJERCICIO CONSTANTE CINÉTICA DEL Pi/S

EJERCICIO CONSTANTE CINÉTICA del Pi/PCr

ANOVA de medidas repetidas 3m-7m-final con FA/C (efectos intra-sujetos)

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Cinética	Greenhouse-Geisser	,048	1,852	,026	,199	,804
Cinética * FA/C		,538	1,852	,290	2,225	,125
Error(cine)	Greenhouse-Geisser	5,320		,131		

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Intersección	49,500	1		144,869	,000
FA/C	2,986	1	2,986	8,740	,007**
Error	7,517	22	,342		

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

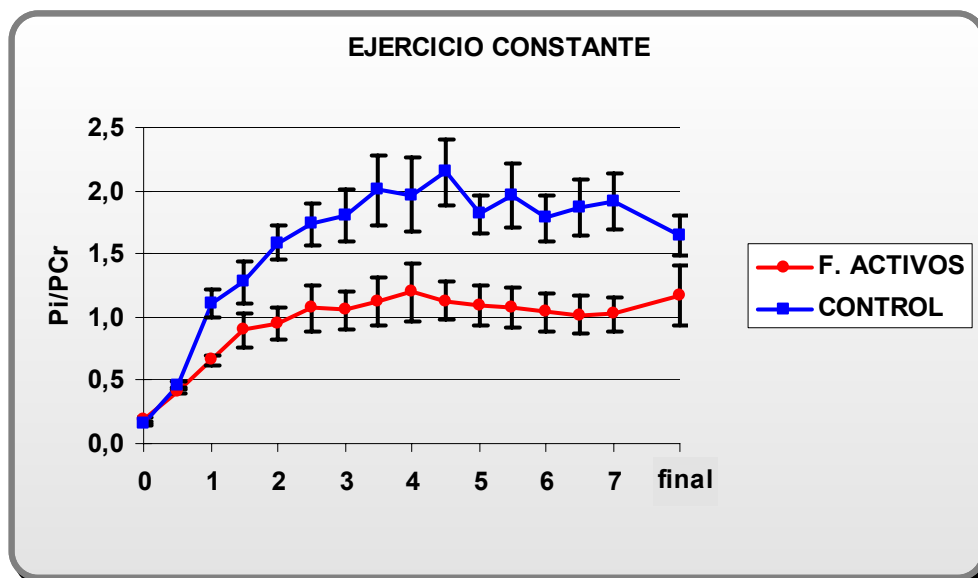
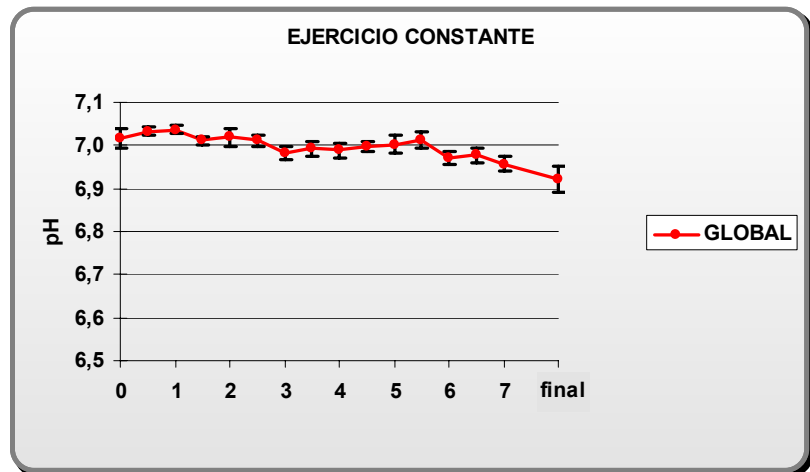


GRÁFICO 9.22. EJERCICIO CONSTANTE CINÉTICA DEL PI/PCr

CINÉTICA DEL pH_i EN EL EJERCICIO CONSTANTE (24 SUJETOS)

Medida: pH_i

cinetica	Variable dependiente
2	pH_0
3	pH_0.5
4	pH_1
5	
6	pH_2.5
7	pH_3
8	pH_3.5
9	pH_4
10	pH_4.5
11	pH_5
12	pH_5.5
13	pH_6
14	pH_6.5
15	pH_7
16	pH_fin



ANOVA medidas repetidas Medida: pH_i Pruebas de efectos intra-sujetos

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
cinetica	Greenhouse-Geisser	,310	3,664	,085	4,131	,005**
Error(cinetica)	Greenhouse-Geisser	1,725	84,269	,020		

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

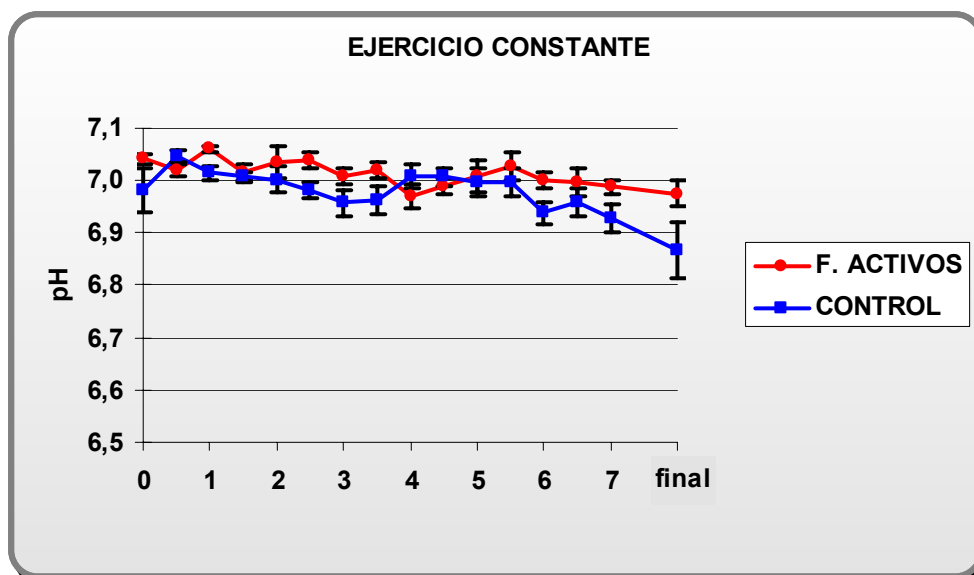
GRAFICO 9.23 CINÉTICA DEL pH_i EN EL EJERCICIO CONSTANTE (24 SUJETOS)

ANOVA medidas repetidas Medida: pHi Pruebas de efectos intra-sujetos

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	
cinetica	Greenhouse-Geisser	,310	3,467	,089	4,272	,005
cinetica * FA/C	Greenhouse-Geisser	,130	3,467	,037	1,789	,148
Error(cinetica)		1,595	76,281	,021		

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Intersección	1174,409	1	1174,409	809642,850	,000
FA/C	,006	1	,006	3,977	
Error	,032	22	,001		


ANOVA medidas repetidas Grupo FA Medida: pHi Pruebas de efectos intra-sujetos

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
cinetica	Greenhouse-Geisser	,104	3,586	,029	2,489	,065
Error(cinetica)	Greenhouse-Geisser	,459	39,448	,012		

ANOVA medidas repetidas Grupo C Medida: pHi Pruebas de efectos intra-sujetos

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
cinetica	Greenhouse-Geisser	,336	2,284	,147	3,250	,050
Error(cinetica)	Greenhouse-Geisser	1,136	25,123			

GRAFICO 9.24 CINÉTICA DEL pHi EN EL EJERCICIO CONSTANTE PARA FA/C

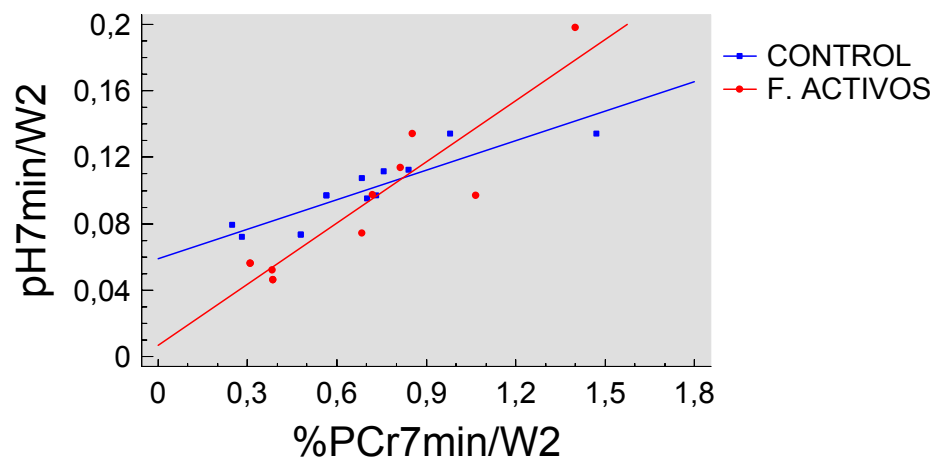
INTERRELACIÓN ENTRE pH_i Y %PCr A LOS 7 MINUTOS.

Se ha estudiado la regresión lineal entre el pH_i a los 7 minutos del ejercicio normalizado con la potencia al cuadrado ($\text{pH}_{7\text{min}}/W^2$) con el porcentaje de PCr_{7min} a los 7 minutos del mismo y también normalizado con W^2 ($\%PCr_{7\text{min}}/W^2$). Se han obtenido las rectas de regresión para el grupo FA y para el C, y su coeficiente de correlación r .

Para FA $\text{pH}_{7\text{min}}/W^2 = 0,00678568 + 0,122842\%PCr_{7\text{min}}/W^2$ ($r = 0,924013$)

Para C $\text{pH}_{7\text{min}}/W^2 = 0,0587205 + 0,0594693\%PCr_{7\text{min}}/W^2$ ($r = 0,891997$)

EJERCICIO CONSTANTE



Se comparan las dos líneas de regresión anteriores, obteniéndose:

ANOVA para las Variables en el Orden Ajustado

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
$\%PCr_{7\text{min}}/W^2$	0,0208134	1	0,0208134	96,13	0,0000
Punto de corte	0,000534892	1	0,000534892	2,47	0,1317
Pendiente	0,00246621	1	0,00246621	11,39	0,0030**
Modelo	0,0238145	3			

** $p < 0,001$

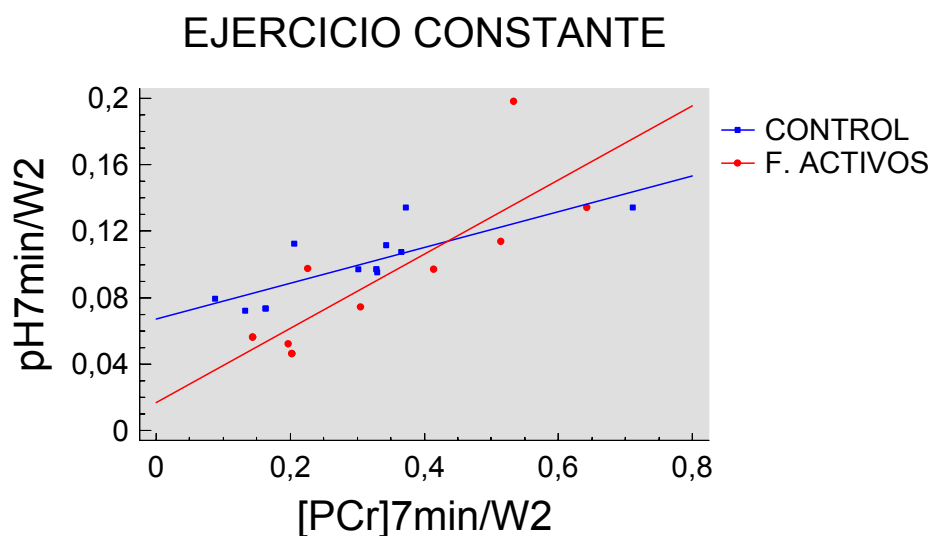
GRÁFICO 9.25A pH_i/W^2 vs $\%PCr/W^2$ A LOS 7 MINUTOS DEL EJERCICIO CONSTANTE

INTERRELACIÓN ENTRE pH_i y [PCr] A LOS 7 MINUTOS.

Se ha estudiado la regresión lineal entre el pH_i a los 7 minutos del ejercicio normalizado con la potencia al cuadrado (pH_{i7m}/W²) con la concentración de PCr a los 7 minutos del mismo y también normalizado con W² ([PCr]_{7m}/W²). Se han obtenido las rectas de regresión para el grupo FA y para el C, y su coeficiente de correlación r.

Para FA $\text{pHi7m/W}^2 = 0,0167921 + 0,223455 \cdot [\text{Pcr7m/W}^2]$ (r = 0,83509)

Para C $\text{pHi7m/W}^2 = 0,0671842 + 0,1075 \cdot [\text{Pcr7m/W}^2]$ (r = 0,806962)



Se comparan las dos líneas de regresión anteriores, obteniéndose:

ANOVA para las Variables en el Orden Ajustado

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	
[PCr] _{7min} /W ²	0,0162401	1	0,0162401	37,92	0,0000
Punto de corte	0,00128538	1	0,00128538	3,00	0,0986
Pendiente	0,00205321	1	0,00205321	4,79	0,0406*
Modelo	0,0195786	3			

* p < 0,05

GRÁFICO 9.25B pH_i/W² vs [PCr]/W² A LOS 7 MINUTOS DEL EJERCICIO CONSTANTE

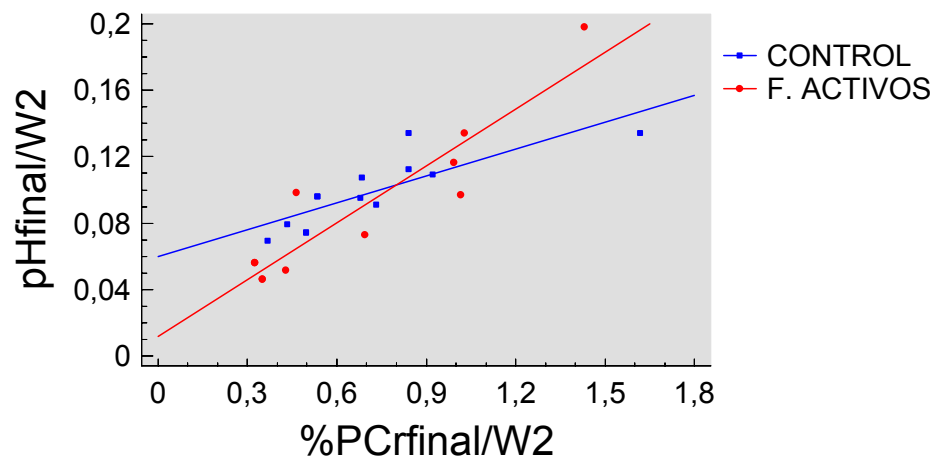
INTERRELACIÓN ENTRE pHi y %PCr AL FINAL DEL EJERCICIO CONSTANTE

Se ha estudiado la regresión lineal entre el pHi al final del ejercicio normalizado con la potencia al cuadrado (pHi_{final}/W^2) con el porcentaje de PCr_{rep} al final del mismo y también normalizado con W^2 ($\%PCr_{final}/W^2$). Se han obtenido las rectas de regresión para el grupo FA y para el C, y su coeficiente de correlación r

Para FA $pHi_{final}/W^2 = 0,0117614 + 0,114049 * \%Pcr_{final}/W^2$ (r = 0,923735)

Para C $pHi_{final}/W^2 = 0,0598958 + 0,0539921 * \%Pcr_{final}/W^2$ (r = 0,818432)

EJERCICIO CONSTANTE



Se comparan las dos líneas de regresión anteriores, obteniéndose:

ANOVA para las Variables en el Orden Ajustado

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
$\%PCr_{final}/W^2$	0,0205765	1	0,0205765	81,01	0,0000
Punto de corte	0,000263785	1	0,000263785	1,04	0,3203
Pendiente	0,00243565	1	0,00243565	9,59	0,0057**
Modelo	0,023276	3			

** p < 0,001

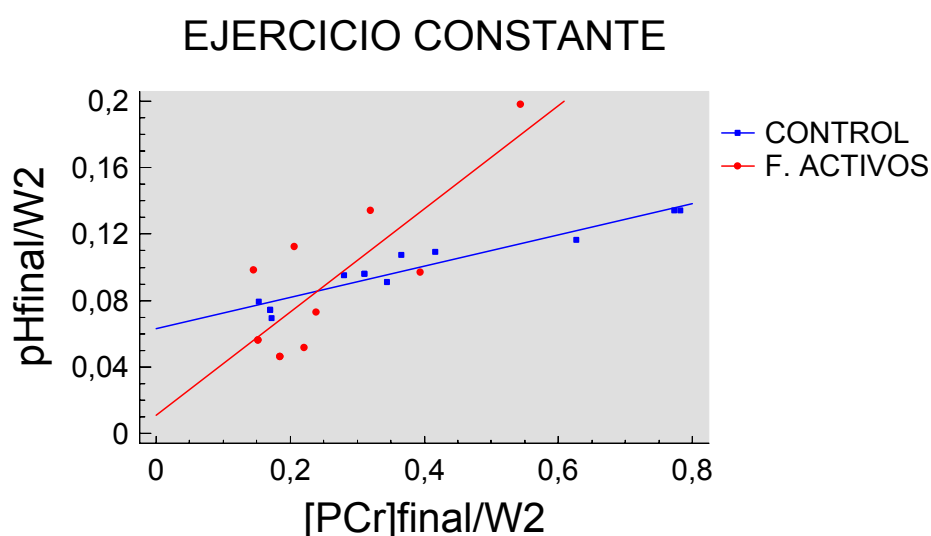
GRÁFICO 9.26A pHi/W^2 vs $\%PCr/W^2$ AL FINAL DEL EJERCICIO CONSTANTE

INTERRELACIÓN ENTRE pH_i y [PCr] AL FINAL DEL EJERCICIO CONSTANTE

Se ha estudiado la regresión lineal entre el pH_i al final del ejercicio normalizado con la potencia al cuadrado ($\text{pH}_{\text{final}}/W^2$) con la concentración de PCr al final del mismo y también normalizado con W^2 ($[\text{PCr}]_{\text{final}}/W^2$). Se han obtenido las rectas de regresión para el grupo FA y para el C, y su coeficiente de correlación r

Para FA $\text{pH}_{\text{final}}/W^2 = 0,0106135 + 0,311206*[\text{PCr}]_{\text{final}}/W^2$ ($r = 0,818306$)

Para C $\text{pH}_{\text{final}}/W^2 = 0,0629888 + 0,0941939*[\text{PCr}]_{\text{final}}/W^2$ ($r = 0,961877$)



Se comparan las dos líneas de regresión anteriores, obteniéndose:

ANOVA para las Variables en el Orden Ajustado

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
$[\text{PCr}]_{\text{final}}/W^2$	0,0146173	1	0,0146173	37,77	0,0000
Punto de corte	0,00028764	1	0,00028764	0,74	0,3988
Pendiente	0,00571159	1	0,00571159	14,76	0,0010**
Modelo	0,0206165	3			

** $p < 0,001$

Gráfico 9.26b pH_i/W^2 vs $[\text{PCr}]/W^2$ al final del ejercicio constante

EJEMPLO DE LA EVOLUCIÓN DE %PCr A PARTIR DE 9 MINUTOS

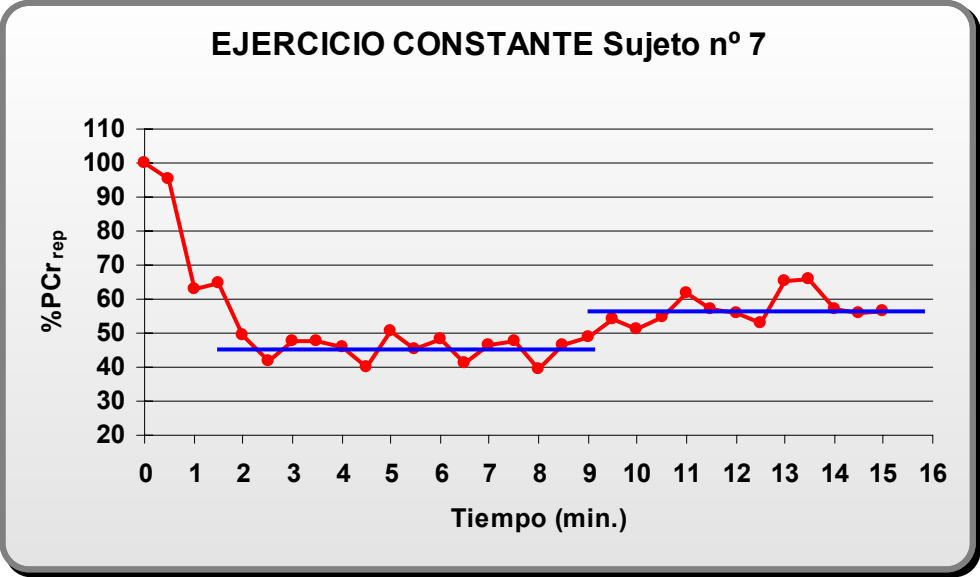


GRÁFICO 9.27 EJEMPLO DE LA EVOLUCIÓN DE %PCr A PARTIR DE 9 MINUTOS

TIEMPO MEDIO DE $\tau\%PCr_{rep}$ PARA LAS RECUPERACIONES DE AMBOS EJERCICIOS

Variable	GLOBAL N = 24			FISICAMENTE ACTIVOS N = 12			CONTROL N = 12		
	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo
$\tau\%PCr_{rep}$ I	41,04 \pm 3,03	72,24	21,86	33,57 \pm 3,92*	67,42	21,86	48,51 \pm 3,60*	72,24	29,02
$\tau\%PCr_{rep}$ CT	34,8 \pm 3,4	85,93	15,95	25,0 \pm 2,6**	36,00	15,95	44,5 \pm 4,9**	85,93	21,90

T de Student entre FA/C *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

T pareada entre I/CT ^ap<0,05, ^{aa}p<0,01, ^{aaa}p<0,001

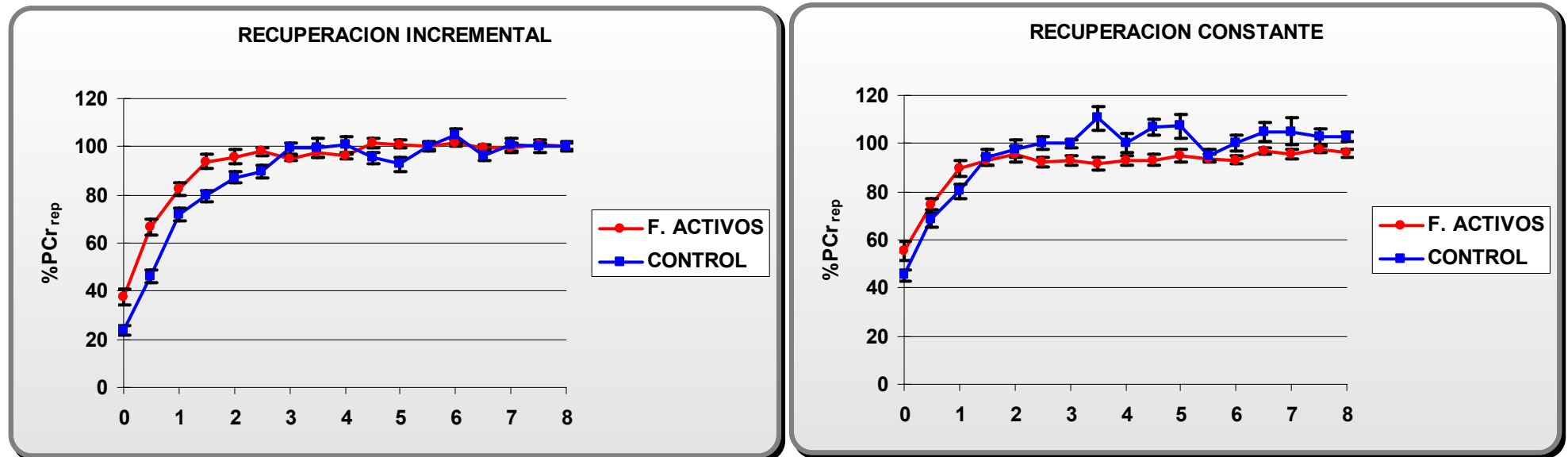


GRÁFICO 9.28 TIEMPO MEDIO DE $\tau\%PCr_{REP}$ PARA LAS RECUPERACIONES DE AMBOS EJERCICIOS

TIEMPO MEDIO DE τ Pi/PCr PARA LAS RECUPERACIONES DE AMBOS EJERCICIOS

Variable	GLOBAL N = 24			FISICAMENTE ACTIVOS N = 12			CONTROL N = 12		
	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo
τ Pi/PCr I	17,76 \pm 1,08 ^a	35,20	11,16	17,31 \pm 0,86	21,76	11,16	18,22 \pm 2,02	35,20	11,37
τ Pi/PCr CT	20,9 \pm 1,0 ^a	28,42	11,23	19,0 \pm 1,2	22,76	11,23	22,8 \pm 1,4	28,42	13,52

T de Student entre FA/C *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

T pareada entre I/CT ^ap<0,05, ^{aa}p<0,01, ^{aaa}p<0,001

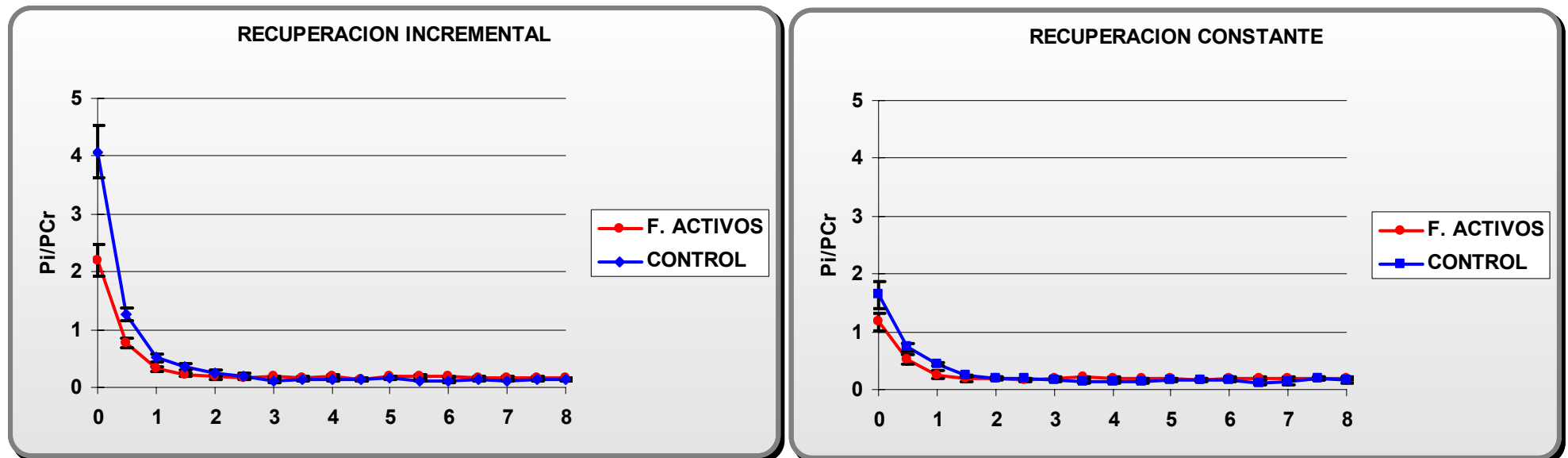


GRÁFICO 9.29 TIEMPO MEDIO DE τ Pi/PCr PARA LAS RECUPERACIONES DE AMBOS EJERCICIOS

TIEMPO MEDIO DE τ Pi PARA LAS RECUPERACIONES DE AMBOS EJERCICIOS

Variable	GLOBAL N = 24			FISICAMENTE ACTIVOS N = 12			CONTROL N = 12		
	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo	Media \pm SEM	Máximo	Mínimo
τ Pi I	33,63 \pm 2,44	70,02	17,45	27,36 \pm 1,89**	36,39	17,45	39,89 \pm 3,76**	70,02	20,31
τ Pi CT	29,3 \pm 2,2	55,80	13,07	24,5 \pm 2,2*	38,18	13,07	34,0 \pm 3,5*	55,80	17,68

T de Student entre FA/C *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

T pareada entre I/CT ^ap<0,05, ^{aa}p<0,01, ^{aaa}p<0,001

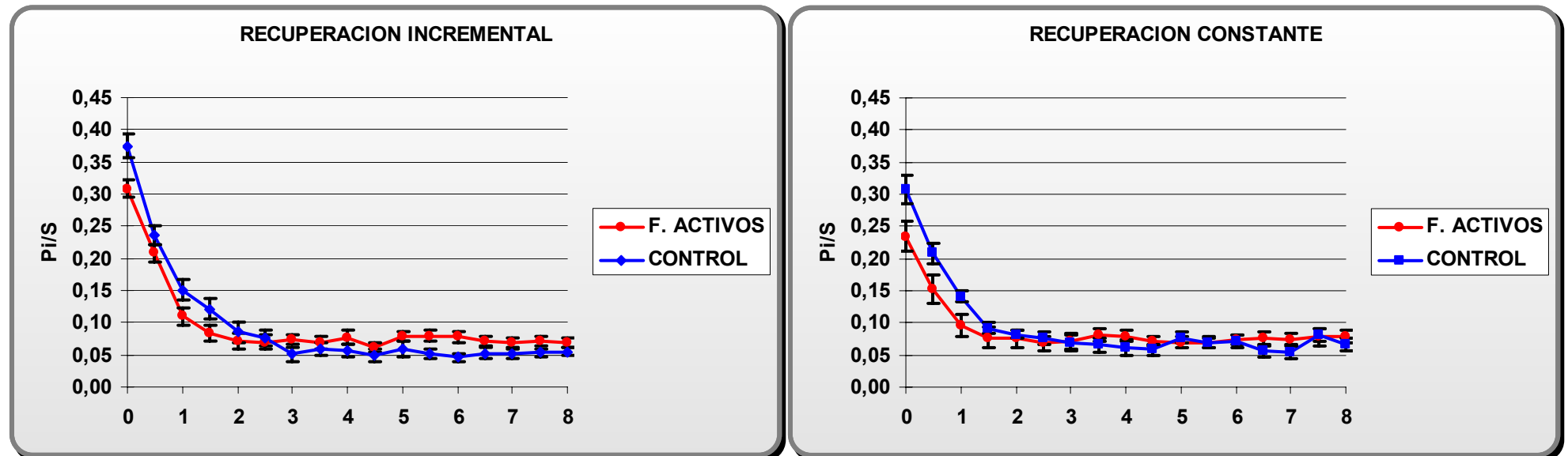


GRÁFICO 9.30 TIEMPO MEDIO DE τ Pi PARA LAS RECUPERACIONES DE AMBOS EJERCICIOS

COMPORTAMIENTO DEL pHi PARA LAS RECUPERACIONES DE AMBOS EJERCICIOS

pHi	GLOBAL N = 24			FISICAMENTE ACTIVOS N = 12			CONTROL 12 N =		
	pHi _{final}	pHi _{min}	TpHi _{min}	pHi _{final}	pHi _{min}	TpHi _{min}	pHi _{final}	pHi _{min}	TpHi _{min}
INCREMENTAL	6,738±0,046 ^{aaa}	6,542±0,043 ^{aaa}	105,0±13,87	***6,900±0,035 ^a	***6,698±0,050	87,5±15,42	***6,576±0,054 ^{aaa}	***6,387±0,031 ^{aa}	122,5±22,60
CONSTANTE	6,92±0,030 ^{aaa}	6,70±0,046 ^{aaa}	112±19	6,97±0,023 ^a	6,76±0,036	97±26	6,86±0,053 ^{aaa}	6,63±0,082 ^{aa}	130±28

T de Student entre FA/C *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

T pareada entre I/CT ^ap<0,05, ^{aa}p<0,01, ^{aaa}p<0,001

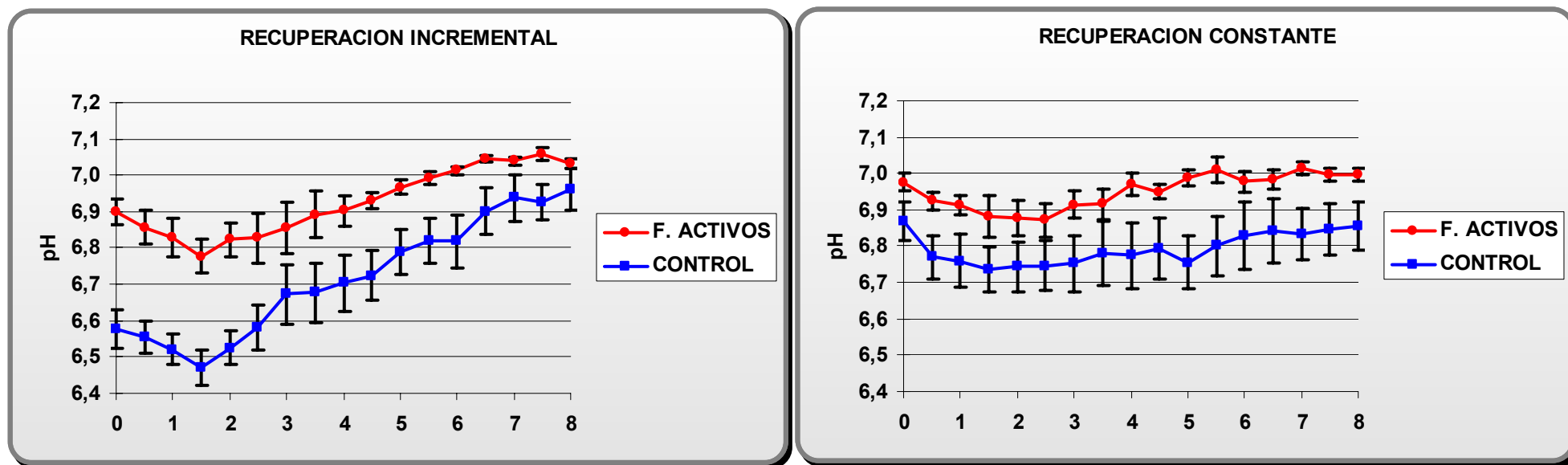


GRÁFICO 9.31 COMPORTAMIENTO DEL pHi PARA LAS RECUPERACIONES DE AMBOS EJERCICIOS

EVOLUCIÓN DEL [ADP] EN EL EJERCICIO INCREMENTAL Y SU RECUPERACIÓN

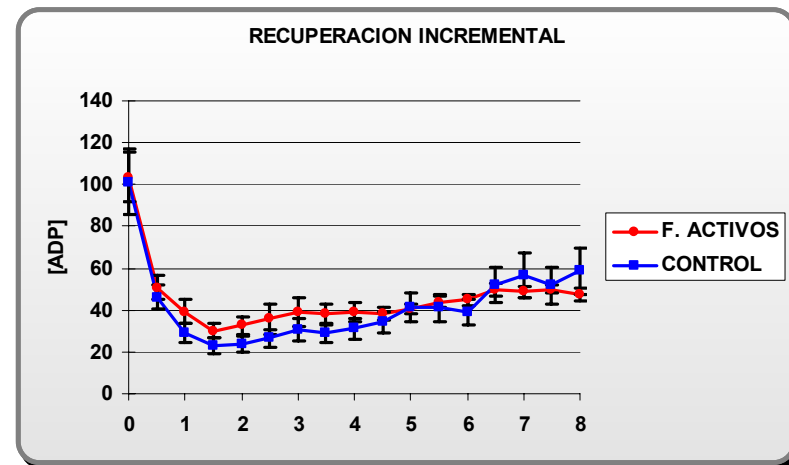
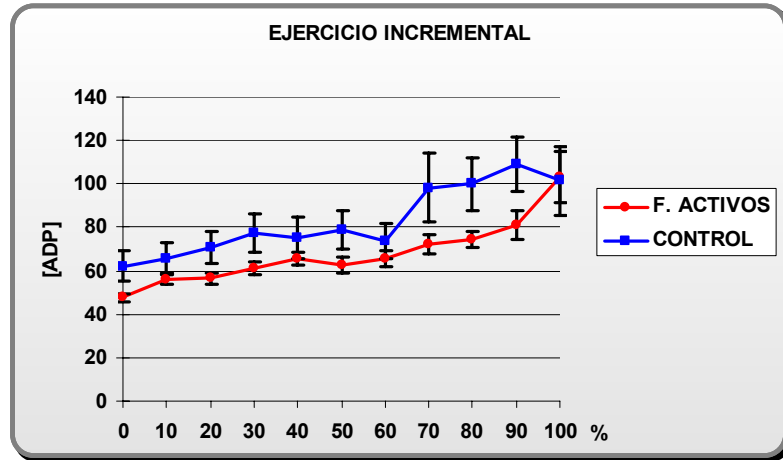


GRÁFICO 9.32 EVOLUCIÓN DEL [ADP] EN EL EJERCICIO INCREMENTAL Y SU RECUPERACIÓN

EVOLUCIÓN DEL [ADP] EN EL EJERCICIO CONSTANTE Y SU RECUPERACIÓN

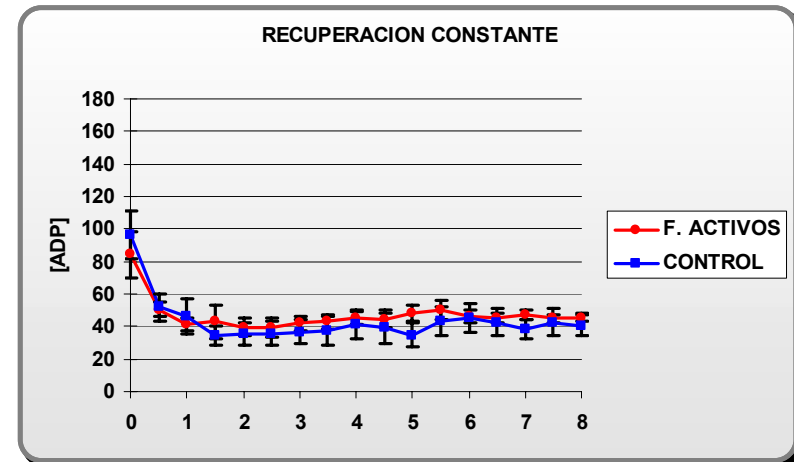
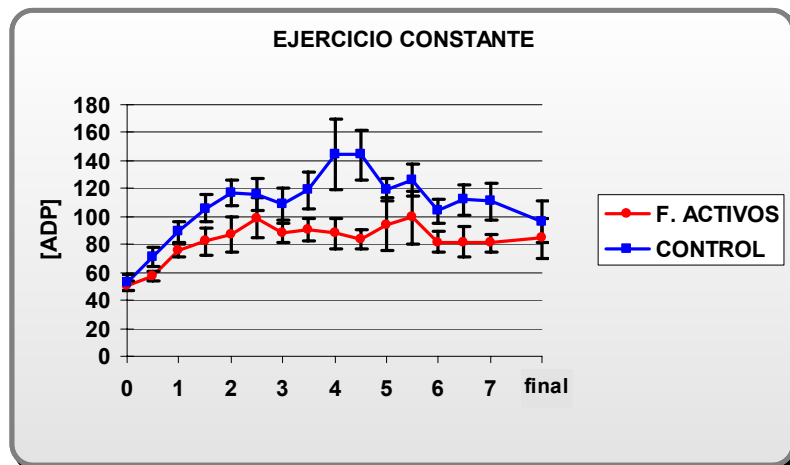


GRÁFICO 9.33 EVOLUCIÓN DEL [ADP] EN EL EJERCICIO CONSTANTE Y SU RECUPERACIÓN

EVOLUCIÓN DEL Δ GATP EN EL EJERCICIO INCREMENTAL Y SU RECUPERACIÓN

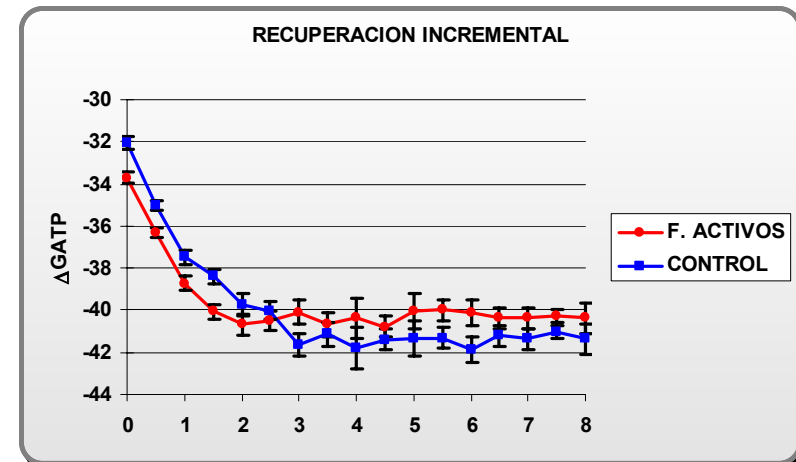
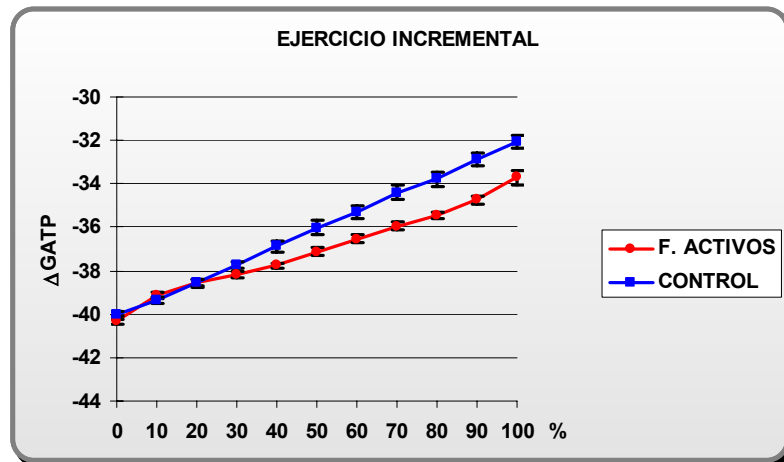


GRÁFICO 9.34 EVOLUCIÓN DEL Δ GATP EN EL EJERCICIO INCREMENTAL Y SU RECUPERACIÓN

EVOLUCIÓN DEL Δ GATP EN EL EJERCICIO CONSTANTE Y SU RECUPERACIÓN

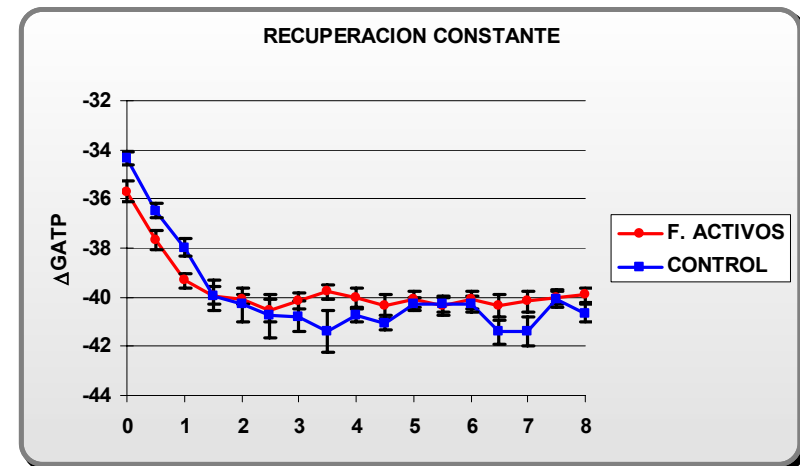
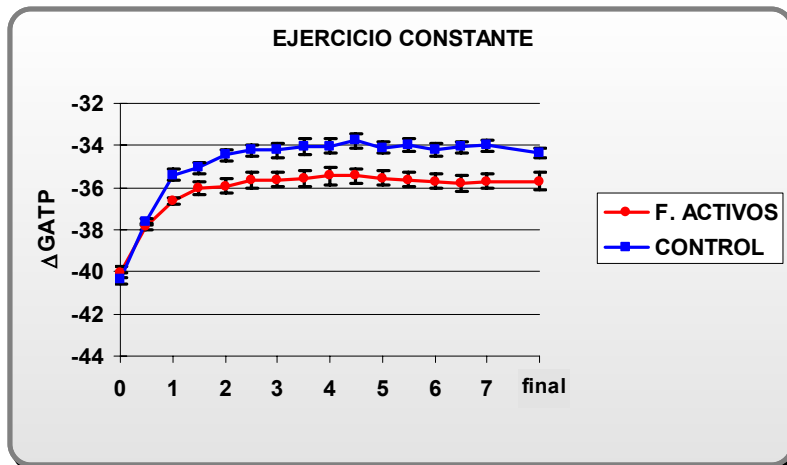


GRÁFICO 9.35 EVOLUCIÓN DEL Δ GATP EN EL EJERCICIO CONSTANTE Y SU RECUPERACIÓN

DISCUSIÓN

10. DISCUSIÓN

10.1 DISCUSION DEL PROTOCOLO

En este trabajo hemos estudiado la influencia de la actividad física sobre los índices metabólicos musculares a través ^{31}P -RMN en un grupo de 24 sujetos sanos. Esta técnica nos ha permitido observar, durante el ejercicio y su recuperación, los cambios rápidos en los parámetros energéticos musculares de forma directa, continua, repetible y lo que puede ser más importante, de modo no invasivo.

Un problema importante para el diseño y la interpretación de los estudios de ^{31}P -RMN es la variabilidad interindividual de resultados en sujetos normales³¹. El carácter anormal de las concentraciones y de las cinéticas se define por comparaciones con los valores controles; la especificidad y la sensibilidad del parámetro obtenido dependerá entonces de los umbrales elegidos con ayuda estadística. Sin embargo, la considerable variabilidad de estos parámetros en la población “normal” hace difícil la elección de umbrales.^{31,32,300}

Muchas de las razones para esta gran variabilidad intersujetos no son completamente explicables pero pueden influir factores derivados de la propia técnica y factores individuales de la muestra estudiada: factores genéticos²⁷⁷, grupo muscular investigado¹⁷⁵, edad de los sujetos^{235,240}, grado de entrenamiento^{36,227}, dieta previa y la influencia de enfermedades sistémicas concomitantes; aspectos ya comentados en los capítulo 5 y 6 de este trabajo.

Esto, condiciona la elección cuidadosa de los grupos de estudio³² y los procedimientos de normalización de los datos que tengan en cuenta esta variabilidad si se quieren realizar comparaciones fiables entre sujetos normales o entre pacientes y controles. Además, habrá que tener en cuenta que los resultados obtenidos en un grupo de sujetos, dependerán de los parámetros de adquisición de los datos y de los diferentes protocolos de ejercicio, lo que significa que datos de diferentes laboratorios pueden ser difícilmente comparables directamente³².

Una característica frecuente de los estudios de RMN es el reducido tamaño de las muestras objeto de estudio. La carestía del procedimiento, el tiempo utilizado para el estudio de cada

individuo, la dificultad en la obtención de los datos y el escaso número de unidades RMN disponibles han podido contribuir a este hecho³².

Todas estas circunstancias nos han obligado a definir los criterios de inclusión que debían cumplir los sujetos sometidos al estudio.

La historia clínica a través del interrogatorio y el examen físico permitió descartar la presencia de procesos que pudieran interferir con el metabolismo muscular; bien por afectación primaria o secundaria al músculo (miopatía primaria, limitación del flujo sanguíneo, alteración en el aporte de oxígeno y/o nutrientes).

En la selección de la muestra se tuvieron en cuenta factores de edad y sexo. La edad de los individuos que componen la muestra se sitúa entre 22 y 53 años, con una media de edad de 37.00 ± 1.70 . En este rango, la influencia sobre el metabolismo oxidativo de este factor no parece destacable^{235,239,240}. La influencia del factor sexo no ha sido dilucidada; sin embargo, se ha mantenido en nuestra muestra la misma distribución de hombres y mujeres en cada uno de los grupos estudiados.

Las características individuales de talla, peso, perímetro de la pantorrilla y índice de masa corporal (IMC) de los sujetos permitió evaluar la homogeneidad de los dos grupos de la muestra, sujetos físicamente activos frente a controles (Tablas 9.1 y 9.2)

Se ha considerado el criterio de estado de acondicionamiento físico (nivel de actividad física habitual) para distribuir la muestra del estudio en dos grupos, control (C) y físicamente activos (FA), atendiendo a dos características: tipo y tiempo de actividad física realizada.

Para la valoración del tipo de actividad realizada en nuestro trabajo se consideraron aquellas actividades que involucraban primariamente a las extremidades inferiores, debido a que los músculos evaluados en nuestro protocolo de estudio eran los músculos de la pantorrilla.

En el cuestionario que cumplimentaron los sujetos, se contabilizó el tiempo total utilizado en las actividades de la vida diaria y de aquellas actividades que por su intensidad pudieran no inducir entrenamiento en los sujetos (coger el transporte público, paseos). Con objeto de disminuir la variabilidad en los estados de acondicionamiento físico de los sujetos de la muestra, se consideraron en el grupo control a los sujetos tipo 1 que realizaban actividades de intensidad baja (4 METs) pocas horas y en el grupo de acondicionados físicamente, los

sujetos tipo 4 que realizaban actividades de alta intensidad (igual o superior a 6 METs) durante más de 3 horas.

Para valorar la intensidad de la actividad física realizada se realizó una estimación de los equivalentes metabólicos (METs) de las distintas actividades realizadas¹⁴³. Esta intensidad de ejercicio de 6 METs puede mejorar el estado físico en muchos sujetos sedentarios²⁷⁸; y es superior al de 5 METs²³³, utilizado en algunos trabajos para calificar los sujetos como acondicionados.

Para poder comparar los resultados de nuestra población hemos utilizado parámetros de carga para la normalización de los datos. En general, estos procedimientos aunque aconsejados no siempre han sido utilizados en la literatura y se basan en parámetros antropométricos o en parámetros de carga.

En este trabajo hemos utilizado el test de ejercicio “incremental, en rampa” que nos ha permitido, además, analizar los parámetros metabólicos durante el desarrollo del ejercicio^{94,216,220,234,237,262}. La máxima potencia alcanzada individualmente por cada sujeto (potencia máxima tolerada-PMT), permite el cálculo por aproximación y la posterior comparación, durante la evolución del ejercicio, de los parámetros metabólicos a un mismo estrés relativo.

Por otro lado, el modelo de reclutamiento desarrollado por las fibras musculares durante los niveles graduados de ejercicio isotónico submáximo, junto con la riqueza en fibras oxidativas lentas del músculo estudiado^{163,279,280} parecen presentar este modelo, como bien adaptado, para la consecución de los objetivos propuestos en nuestro trabajo.

El parámetro de normalización descrito ha permitido también calcular, para cada individuo, la carga individual relativa del segundo ejercicio. En la literatura, los niveles de carga relativa para el ejercicio constante son variados^{109,129,163,237,281} en los protocolos de ³¹P-RMN; los motivos anteriormente expresados, junto a la consideración de que una intensidad de ejercicio de un 60-85% de VO_{2max} se considera moderada por algunos autores^{199,282-284} permitieron fijar la carga para la consecución del ejercicio “constante” o “estable” en un 70% de la PMT.

Aunque otros procedimientos de normalización de carga podrían haberse utilizado, como la determinación de la MVC en este trabajo; el ergómetro adaptado para los protocolos de ³¹P-

RMN desarrollado en nuestro laboratorio no disponía de la mecánica necesaria para estas determinaciones.

Otros métodos de normalización utilizan medidas antropométricas tales como el peso, altura, índice de masa corporal (IMC), masa magra corporal²¹⁸; área de sección transversa muscular²²¹ y el volumen muscular^{209,213,220}. Los primeros han sido utilizados en este trabajo para evaluar la homogeneidad de las muestras como se ha comentado previamente. La determinación de los dos últimos, exige técnicas de imagen de RMN que permitan calcular el área y el volumen muscular de interés. Globalmente, estos métodos asumen que la densidad de mitocondrias en el músculo y el metabolismo intermediario que lo soporta son proporcionales a las variables antropométricas; pero también presupone que los músculos activados pueden ser adecuadamente identificados, y consistentemente estimulados²⁷⁶. Limitaciones de la técnica del espectrómetro utilizado impidieron estas determinaciones.

10.2. DURACION DE LOS EJERCICIOS

Los ejercicios tuvieron una duración variable. El desarrollo total del ejercicio incremental, mostró una duración total o potencia máxima tolerada (PMT) algo superior para los sujetos FA (FA = 15.79 ± 0.86 min. y C = 13.83 ± 0.52 min.) pero no significativamente diferente (Tabla 9.3) y la potencia máxima alcanzada fue también algo superior. El trabajo realizado por cada individuo fue proporcional a su duración, con un Wmax promedio de 6789 ± 724 J para los sujetos FA y de 5096 ± 372 J para los sujetos control. El limitado número de sujetos pudo contribuir a la ausencia de diferencias estadísticamente significativas en la duración del ejercicio.

La potencia media del ejercicio constante se situó en 9.65 ± 0.56 W en los sujetos FA y en 8.40 ± 0.33 en los C. Sin embargo, la duración del ejercicio constante y por tanto el trabajo realizado fue, significativamente superior en los sujetos físicamente activos, con una duración media de 16.92 ± 1.85 min que representó un trabajo medio de 10393 ± 1602 J; frente a los sujetos control con una duración media de 11.83 ± 0.91 min y un trabajo medio de 6057 ± 572 J.

En ambos ejercicios la duración total mostró una interrelación positiva con las variables antropométricas individuales de talla, peso, perímetro de la pantorrilla; de forma que fue

superior en los sujetos más altos, más pesados y con un perímetro mayor en su pierna, para los dos protocolos de esfuerzo (Tablas 9.4 y 9.5).

Esta relación explica las diferencias intersujetos en la duración del ejercicio, pero dada la homogeneidad de las muestras respecto a las características físicas, no explica las diferentes duraciones del ejercicio en los dos grupos estudiados.

Otros factores como la motivación del sujeto, la técnica o táctica utilizada en el ejercicio, la función de enzimas musculares, el suministro de oxígeno y sustratos pueden estar relacionados con la mayor PMT y sobre todo con la significativa mayor duración del ejercicio submáximo en el grupo de sujetos físicamente activos de la muestra.

Como se ha referido en el apartado de material y métodos, los sujetos finalizaron el protocolo de ejercicio progresivo y el constante cuando no pudieron mantener el ritmo impuesto o desplazar la carga la distancia prefijada. Aunque los resultados de los parámetros energéticos musculares al final de los ejercicios fueron variables y serán analizados más adelante en la discusión, no mostraron correlaciones con la duración de los ejercicios. Por tanto las diferencias en la duración del ejercicio en el grupo de sujetos físicamente activos de la muestra frente a los controles no pueden ser explicadas por las modificaciones de los parámetros metabólicos. (Tablas 9.6 y 9.7)

Los mecanismos de fatiga muscular han sido ampliamente estudiados pero su etiología no ha sido aún aclarada²⁸⁵⁻²⁸⁷. Se han involucrado tanto factores centrales, que alterarían la transmisión neuromuscular; como factores periféricos, entre los que se considera el fallo de la excitación-contracción como el mecanismo principal que lleva a la fatiga²⁸⁵. La acumulación intramioplasmática de Pi debida la rotura de PCr y la limitación en la disponibilidad de ATP²⁰ han sido los factores más investigados. Los estudios in vitro así lo demuestran y han sido los estudios de ³¹P-RMN los que han tratado de poner en evidencia este fenómeno inhibitorio del Pi en condiciones fisiológicas^{36,88,157,288,289}. La reducción de las reservas de glucógeno pueden jugar un papel importante en el desarrollo de fatiga²⁹⁰, por su papel de fuente de ATP al retículo sarcoplásmico. Una aproximación combinada de registros de ³¹P-RMN y EMG, debería mejorar y arrojar luz a nuestra comprensión de los mecanismos de fatiga muscular humana.

10.3. EJERCICIO INCREMENTAL

10.3.1. Cinética del ejercicio incremental

Durante el desarrollo del ejercicio incremental y hasta el final del ejercicio se ha estudiado la evolución de los parámetros metabólicos, Pi/S, PCr/S, ATP/ y pHi (Gráficos 9.1- 9.4)

Vamos a referirnos a continuación a los parámetros Pi/S, PCr/S y ATP/S como Pi, PCr y ATP. Con objeto de facilitar comparaciones se han calculado las concentraciones de los metabolitos [PCr], [Pi] y [ATP] como se ha reflejado en material y métodos.

Dada la variabilidad interindividuos de los datos de reposo y final del ejercicio, y con objeto de facilitar el estudio estadístico de los datos espectrales de PCr y Pi, se normalizaron sus valores respecto a los resultados obtenidos en reposo presentándose en ocasiones como porcentajes de estos cambios^{37,70,110,291}.

El rango de valores de pHi observados en nuestro estudio en condiciones basales de reposo fueron también coincidentes con los recogidos en la literatura.^{37,94,109,110,164,276}

Con el ejercicio incremental se pretendió explorar la respuesta de los parámetros metabólicos a la sobrecarga progresiva. La PCr disminuyó de forma continua en tanto que el Pi aumentó progresivamente, mientras los valores de ATP se mantuvieron sin diferencias significativas (Gráficos 9.1-9.3). Estos resultados coinciden con los hallados en estudios previos de ³¹P-RMN, que han mostrado este aumento de la hidrólisis de PCr con la intensidad del ejercicio^{94,163,166,126-128}. Los resultados de las variables metabólicas en el reposo y al final del ejercicio incremental se muestran en la Tabla 9.8

Durante el ejercicio la hidrólisis de ATP libera la energía necesaria para el desplazamiento de las proteínas de actina y miosina, base de la contracción muscular. La PCr y la creatina están ligadas al ATP y al ADP por la reacción de equilibrio de la creatin-fosfoquinasa. Como consecuencia se puede observar, a través de ³¹P-RMN, cómo a medida que aumenta la intensidad del ejercicio y la hidrólisis de ATP es mayor; la PCr continúa disminuyendo y el Pi incrementa concomitantemente^{70,106,108,201,204,292,293}, para mantener la concentración de ATP en estado estable.

Al finalizar el ejercicio fueron evidentes correlaciones entre distintas variables metabólicas; valores mayores de PCr (o una depleción menor) al final del ejercicio se asoció a un valor de Pi menor, una disminución menor del pHi y valores de Pi/PCr menores (Tabla 9.6) .

La variabilidad en las respuestas metabólicas al final del ejercicio podría reflejar las diferentes propiedades intrínsecas de las fibras musculares, pero también podría influir la intensidad del trabajo realizado.

Una mayor intensidad de trabajo (una mayor carga) podría asociarse a una mayor depleción de PCr. Todos los sujetos realizaron un ejercicio máximo; y sin embargo, el grupo de sujetos entrenados alcanzó una PMT algo mayor con valores finales de PCr algo mayores.

Recientemente Bendahan y col³⁰⁰ han sugerido que la pendiente de la interrelación entre el pHi y la PCr al final del ejercicio en relación al trabajo efectuado por cada sujeto, permite evaluar los cambios de pHi y PCr para cada watio de potencia (pHi/W^2 , PCr/W^2). Cada uno de estos cocientes expresaría la relación entre la solicitud mecánica y metabólica y su pendiente reflejaría probablemente las propiedades intrínsecas de las fibras musculares. Esta estrategia contribuiría a disminuir la variabilidad de los resultados y permitiría establecer una interrelación entre las variables metabólicas.

Los autores han demostrado que la interrelación persiste para cada sujeto independientemente del protocolo usado; y por tanto, permite comparar los cambios metabólicos inducidos por el ejercicio en diferentes protocolos de esfuerzo. También sugieren que todo cambio en la pendiente indica una modificación en la producción de energía del músculo.

Hemos aplicado esta aproximación a nuestros resultados, comparando las pendientes entre los dos protocolos de ejercicio propuestos en este trabajo. Para el cálculo de las pendientes hemos estimado el valor de PCr expresado tanto en porcentaje con respecto al reposo (%PCr) como con su concentración [PCr] mM.

No hemos encontrado diferencias entre ambas en el conjunto de la muestra estudiada. (Gráfico 9.5a y 9.5b). Sin embargo las pendientes se han mostrado diferentes entre los dos grupos de sujetos, físicamente activos frente a controles, lo que habla a favor de un comportamiento diferente, como se detallará más adelante. (Gráfico 9.6a,9.6b)

Estos resultados nos estarían mostrando un comportamiento similar de los sujetos de la muestra en los dos protocolos a estudio; pero también estarían mostrando las diferencias en el comportamiento de los sujetos FA frente a los C.

El objetivo de estudiar las interrelaciones internas entre las variables metabólicas sería el proponer una estrategia de estandarización, que permitiera conocer el estado del músculo²¹⁵

En este contexto, ha sido propuesto también, utilizar el umbral intracelular (IT) calculado en el ejercicio incremental, como un índice de la capacidad oxidativa²¹⁶

10.3.2. Índices de capacidad oxidativa muscular

El estado de la fosforilación oxidativa fue estudiada a través de la relación de Pi/PCr^{74,90}.

El Pi/PCr aumentó de forma lineal en los sujetos de la muestra, con el incremento de la carga impuesta al músculo por el ejercicio, hasta un nivel umbral; a partir del cual la interrelación varió. Este punto definido en la literatura como el umbral intracelular (IT) o umbral de ruptura^{276,234} se expresa habitualmente en relación a la potencia de pico, para corregir las diferencias en la masa muscular de los músculos. (Gráfico 9.7)

La hidrólisis de PCr y la carga de trabajo impuesta por el ejercicio se han mostrado en la literatura con una evolución lineal para las intensidades de trabajo bajas y medias¹²⁷; a niveles más altos de ejercicio se ha documentado una aceleración de la hidrólisis de la PCr respecto a la carga, como resultado del impedimento de la actividad de la creatin-kinasa por la disminución del pH^{94,163}.

El umbral intracelular se situó en el conjunto de la muestra estudiada, en una relación media de Pi/PCr = 0.680 ± 0.029 que correspondió a un $56.7 \pm 2.87\%$ de Wmax.

La pendiente inicial de esta interrelación fue de (%Wmax / (Pi/PCr = 114.089 ± 7.7) y ha sido usada como índice del potencial oxidativo muscular¹⁶⁷, es decir como indicador de la capacidad máxima del músculo para producir ATP por oxidación³⁶.

El potencial de la pendiente inicial de Pi/PCr como indicador del potencial oxidativo, fue desarrollado por Chance y col²⁹⁴ sobre la teoría que responsabiliza al ADP como potencial

regulador de la fosforilación oxidativa²⁹⁴. Durante el ejercicio moderado, en el que se alcanza un estado-estable, un incremento en Pi/PCr se correla con un incremento en ADP. En estas condiciones, en las cuales el aporte de oxígeno y la concentración de sustratos no están limitados, la interrelación entre la potencia y el Pi/PCr o [ADP] se aproximan a una hipérbola tipo de Michaelis-Menten, cuya porción inicial es esencialmente lineal. La asíntota de esta hipérbola rectangular²⁹⁴ corresponde a la máxima velocidad de la fosforilación oxidativa (V_{max}).

En aplicación de esta teoría la pendiente inicial de la potencia frente al Pi/PCr, o interrelación del coste de energía al trabajo, podría ser usada como un índice de función mitocondrial, para aproximar el potencial oxidativo del músculo esquelético humano para mantener la producción de ATP^{36,294}. Esta aproximación ha sido utilizada para evaluar el potencial oxidativo muscular, en pacientes con diversos procesos patológicos y en deportistas entrenados, por técnica de ³¹P-RMN^{75,111,295-298}.

Al comienzo del ejercicio observamos en los sujetos un incremento transitorio del pHi; un efecto que previamente ha sido descrito como una alcalinización transitoria y una respuesta bifásica del pHi^{37,109,166,274} originada por la hidrólisis de PCr al comienzo del ejercicio.

Después de esta respuesta bifásica inicial, el pHi permaneció estable, sin modificaciones significativas respecto al reposo, a pesar de aumentar la carga impuesta sobre el músculo hasta un nivel de potencia en el cual el pHi comenzó a descender progresivamente hasta el final del ejercicio (Gráfico 9.4.)

Para el conjunto de la muestra el pHi umbral (IT-pHi), individualmente calculado para cada sujeto se situó al $60,57 \pm 4,60\%$ de Wmax ($pHi = 7,004 \pm 0,009$); es decir a un nivel de trabajo relativo similar al umbral de Pi/PCr (IT-PCr). Varios estudios previos han situado por medición espectroscópica el IT pHi en un rango entre el $47\%^{94}$ y el 60 - 80% del pico de trabajo, durante un ejercicio muscular progresivo^{163,166,276}. (Gráfico 9.8)

En nuestro trabajo la localización individual de los umbrales (Pi/PCr %W, pHi %W) fue muy variable (Gráficos 9.7 y 9.8). Contribuyó a esa variabilidad la condición de actividad física, que separó a los dos grupos de la muestra. Además, en general los IT-Pi/PCr tendieron a anticiparse respecto a los IT-pHi, pero esta anticipación fue mayor en la población de sujetos físicamente activos (FA, Pi/PCr %W = $67,38\% \pm 2,64$; pHi %W = $76,30\% \pm 4,67$)

Umbral coincidentes como los observados en nuestro trabajo, fundamentalmente en los sujetos control, de IT-Pi/PCr y IT-pHi; fueron documentados en los resultados de distintos trabajos experimentales^{216,234,276}. Estos autores relacionaron el IT pHi con los cambios en Pi/PCr, tras la realización de un protocolo de ejercicio isotónico progresivo sobre músculos de la pantorrilla y flexores plantares, argumentando que un aumento acelerado de Pi y de la hidrólisis de PCr durante el ejercicio intenso puede estimular la glucólisis de forma desproporcionada a través de la activación de la fosfofructokinasa. El incremento resultante en ácido láctico e hidrogeniones puede causar una acelerada caída en el pHi y el coincidente umbral²¹⁶.

Otros estudios, a través de biopsias musculares y análisis de sangre, han registrado un rápido incremento en la concentración de lactato sanguíneo y muscular y una disminución del pHi muscular a niveles de ejercicio del 60% VO_2 ²⁹⁹.

Los IT representarían la intensidad de trabajo en la cual se produce una incrementada contribución desde el metabolismo anaeróbico²⁷⁶. La pendiente de Pi/PCr tras el umbral estaría asociada con la activación desproporcionada de la glicólisis²³⁴, y sería monitorizada indirectamente en ³¹P-RMN por el pHi.

El análisis de los IT ha sido aplicado tanto en estudios de sujetos sanos^{94,231,234,237,276}, como realizar estudios diagnósticos^{99,289} y para estudiar el metabolismo oxidativo en distintos procesos patológicos^{301,302}.

En contraste a estas concordancias, otros autores han informado sobre IT no coincidentes^{167,303}. Kent-Braun y col,¹⁶⁷ estudiaron el potencial oxidativo y la secuencia de eventos metabólicos que ocurrían durante un protocolo de ejercicio isométrico progresivo hasta la fatiga en el músculo tibial anterior en ocho sujetos voluntarios sanos. En su trabajo, el punto de inflexión de Pi/PCr apareció a un nivel significativamente más temprano que el punto de inflexión de $[\text{H}^+]$.

Con estos datos los autores definieron tres fases del metabolismo durante el ejercicio. Una primera fase altamente oxidativa, una fase intermedia con inflexión en la relación Pi/PCr y una fase altamente glicolítica en la que aparecía un umbral de pHi y durante la cual la fatiga llega a ser significativa.

Las diferencias entre estos estudios han sido atribuidas al menos en parte al tipo de protocolos utilizado, al tipo de ejercicio o el tipo de músculo investigado²¹⁶. Factores como el flujo sanguíneo y el tipo de fibras muscular podrían influir significativamente en el momento de aparición de estos puntos de inflexión durante el ejercicio progresivo¹⁶⁷.

Así, en un ejercicio isométrico, la oclusión del flujo sanguíneo a un menor porcentaje de la fuerza máxima frente a un ejercicio isotónico podría anticipar el umbral de Pi/PCr¹⁶⁷. Al contrario, un predominio de fibras tipo I en el músculo tibial anterior puede retrasar la influencia del reclutamiento de las fibras tipo II sobre el estado metabólico y retrasar el umbral de pHi. Finalmente, el estudio de los cambios metabólicos frente a diferentes parámetros del ejercicio, como el trabajo o la potencia máxima²⁷⁶, el tiempo transcurrido¹⁶⁷ o el VO_2 ³⁰³, pueden influir en los resultados obtenidos.

Factores como los que acabamos de enunciar han podido contribuir en nuestro estudio a la localización más tardía, es decir, a un más alto porcentaje sobre el trabajo máximo del IT-pHi en la población de sujetos FA de nuestra muestra.

A pesar de su aplicabilidad, la utilización de los test incrementales para la estimación de la capacidad oxidativa ha presentado ciertos inconvenientes²¹⁶.

Se ha referido que no siempre es posible detectar los IT PCr y pHi^{94,216,234}. El punto de ruptura para el pHi puede no aparecer en los sujetos con alto potencial oxidativo, o en sujetos con un bajo porcentaje de fibras tipo II, en tanto que el reclutamiento de estas fibras glucolíticas predomina en los últimos estadios del ejercicio incremental¹⁶⁷.

En nuestro caso, hemos podido ajustar individualmente los IT-Pi/PCr y IT-pHi en los dos grupos de la muestra; sin embargo, en el grupo de sujetos FA el umbral pHi % W se situó por encima del 90% W en 2 sujetos y en otro caso no llegó a ser localizado.

Una segunda desventaja atribuida al uso de los umbrales en los protocolos incrementales, es su incapacidad para detectar cambios en el potencial oxidativo en ciertos estadios de enfermedad donde el eflujo de protones (y además el pHi intracelular) están afectados. Se incluyen la enfermedad vascular periférica, HTA, hipertiroidismo, y algunos casos de miopatía mitocondrial, enfermedad de McArdle, o deficiencia de FFK³⁰⁴; en estos casos la falta de cambio en el pHi umbral no debería ser apropiada para detectar diferencias en la capacidad oxidativa.

En recientes trabajos Schocke y col.^{166,305}, han registrado disminuciones significativas en el pHi durante ejercicios isotónicos incrementales de los músculos de la pantorrilla no asociados a una aceleración de la hidrólisis de PCr. A una intensidad de trabajo del 66% de la potencia en pico, el pHi disminuyó sin un incremento asociado en la hidrólisis de PCr durante el ejercicio¹⁶⁶. En otro estudio, los mismos autores, han obtenido los mismos resultados durante una serie de ejercicios de flexión plantar³⁰⁵. Se discute con estos resultados el papel regulador de la PCr sobre la fosforilación oxidativa, introducido por Mhaleer en 1985¹⁰⁶.

Tomada en conjunto, esta información ofrece un perfil metabólico del músculo esquelético humano desde el reposo al ejercicio que provoca la fatiga.

10.3.3. Influencia de la actividad física sobre la capacidad oxidativa muscular

Para valorar la influencia de la actividad física en el potencial oxidativo muscular, se investigaron las respuestas al ejercicio incremental de los sujetos físicamente activos frente a los sujetos sedentarios o control.

Nuestros datos demostraron comportamientos diferentes en relación a los parámetros metabólicos Pi, pHi, Pi/PCr, PCr en los dos grupos de sujetos estudiados. tanto durante el ejercicio como al final del mismo. (Gráficos 9.9 - 9.14)

En reposo, no se mostraron diferencias en las determinaciones de los parámetros metabólicos PCr, Pi y pHi, ATP entre los sujetos FA y C (Tabla 9.9). Algunos autores han demostrado valores menores de PCr/ATP y Pi/PCr en atletas entrenados en resistencia frente a esprinters, relacionadas con la distribución del tipo de fibras musculares^{28,29,195,205,227}. Otros estudios subrayan, sin embargo, que las diferencias en la capacidad oxidativa se hacen evidentes cuando el metabolismo energético es estimulado por el trabajo muscular^{45,176,227,233,306}.

El estudio de la evolución del ejercicio señaló diferencias en la localización de los IT- Pi/PCr y los IT-pHi respecto al trabajo máximo; es decir en la pendiente inicial de %Wmax/Pi/PCr que podrían ser también explicadas por una mayor capacidad oxidativa en el grupo de sujetos FA (Gráficos 9.7; 9.8). El nivel del IT-Pi/PCr en los sujetos C (IT-Pi/PCr = 46.05% \pm 2.64 Wmax). El IT- pHi en este grupo C se situó al mismo nivel de trabajo relativo, como

hemos comentado previamente, (IT-pHi= 44,84% \pm 4,67 Wmax), con un valor pHi = 6,99 \pm 0,012.

El IT-Pi/PCr se situó a un mayor porcentaje del trabajo máximo (67,38% \pm 2,64 Wmax) en el grupo de sujetos FA; y aún correspondió a un mayor porcentaje el IT-pHi (76,30% \pm 4,67 Wmax) que asoció un valor de pHi = 7,017 \pm 0,012 en los sujetos FA. Los valores de Pi/PCr al IT fueron de 0,723 \pm 0,039 y de 0,636 \pm 0,039, para los sujetos FA y C respectivamente.

La localización de los IT a un mayor porcentaje de trabajo máximo se asoció a valores más altos al final del ejercicio para la PCr y pHi; y menores de Pi y Pi/PCr (Tabla 9.10)

El Pi/PCr o el ADP, regulador principal de la fosforilación oxidativa, aumentó en el ejercicio incremental para hacer frente a las necesidades de ATP. Una mayor capacidad oxidativa se asocia a niveles más bajos de ADP a lo largo del ejercicio para hacer frente a esta necesidad de energía³⁰⁷; y por tanto, a una mayor pendiente inicial de Wmax/ Pi/PCr.

Así, la concentración de ADP citosólico regula la la respiración mitocondrial y del VO₂^{308,309}. Cuando los enzimas oxidativos incrementan en respuesta al entrenamiento en endurance, el músculo esquelético desarrolla una mayor sensibilidad a los cambios relativos en la concentración de ADP²³⁰. Menores cambios en el ADP deberían ser requeridos para producir el mismo VO₂ que antes del entrenamiento²³⁰

La localización de los IT Pi/PCr y pHi entre el 65-76% del Wmax en los sujetos FA frente a los IT de C en 44-48% de Wmax, podría ser explicada por el retraso en la participación de la vía glucolítica en el aporte de energía, por la mayor capacidad oxidativa en este grupo de sujetos.

Al final del ejercicio incremental, observamos un ambiente metabólico diferente entre ambas muestras de sujetos

La depleción de PCr fue significativamente menor en la población FA, (FA- %PCr_{rep} de 37,64% \pm 3,38; C- %PCr_{rep} de 23,84% \pm 1,79) (p < 0,002); los niveles de PCr significativamente más altos y los niveles de Pi más bajos en estos sujetos. Tabla 9.11

El cociente Pi/PCr al final del ejercicio fue también menor en la población FA (FA- Pi/PCr = 2,1893 \pm 0,27; y C- Pi/PCr = 4,07 \pm 0,46) (p < 0,002); además estos sujetos registraron una significativa menor acidificación (FA-pHi = 6,9 \pm 0,03 y C-pHi = 6,57 \pm 0,05) Tabla 9.11

Los niveles de ATP se mostraron constantes a lo largo del ejercicio en ambos grupos de sujetos. Tampoco se demostraron diferencias entre los grupos al final del ejercicio demostrando que la provisión de energía estuvo asegurada a lo largo del trabajo.

El estudio de las pendientes de pHi / W^2 frente a PCr / W^2 (Gráficos 9.15a, 9.15b) ha mostrado diferencias significativas al final del ejercicio incremental en la población de sujetos FA frente a los C.

Aunque, en nuestro conocimiento, no ha sido utilizada esta aproximación para valorar el efecto de la actividad física sobre el metabolismo muscular; una mayor pendiente ($> pHi / W^2 / PCr / W^2$) se mostraría asociada a una menor contribución glicolítica en el metabolismo muscular³⁰⁰. Este comportamiento ha sido mostrado en la enfermedad de McArdle, donde el déficit de glicógeno-fosforilasa asoció una menor contribución de la glicogenolisis al metabolismo muscular y la consecuente falta de acidosis durante el ejercicio y una mayor pendiente en la interrelación referida. Lo contrario (una menor pendiente) fue referido para los pacientes con miopatías mitocondriales reflejando una menor contribución de las vías oxidativas al metabolismo muscular.

Una mayor pendiente como la observada en los individuos activos de nuestro trabajo, se asociaría según esta aproximación a una mayor participación de las vías oxidativas musculares en la obtención de energía.

El predominio de la fosforilación oxidativa en la producción de ATP durante el ejercicio tendría como consecuencia el registro de una menor acidificación durante el ejercicio incremental en el grupo de sujetos FA³⁷. La mejoría en la capacidad oxidativa mitocondrial podría a su vez retrasar la glucólisis. La actividad de la fosfofructokinasa, enzima limitante de la glicolisis puede inhibirse cuando las concentraciones de ATP y PCr son altas en la célula muscular³¹⁰.

En corredores de larga distancia (entrenados en resistencia) la producción de lactato vía glicolisis puede verse inhibida en favor de la fosforilación oxidativa; en tanto que, en sujetos sedentarios, la mayor concentración de iones de hidrógeno desde el lactato vía glicolisis, puede inducir una mayor acidificación en músculos durante el ejercicio, debido a que su metabolismo aerobio es considerablemente menor³⁷.

La adaptación del músculo esquelético al entrenamiento aeróbico, y la resultante mayor capacidad oxidativa, ha sido bien descrito en animales³¹⁰ y en el hombre. Los cambios incluyen una mayor densidad capilar y mitocondrial en el músculo que en otros grupos de sujetos^{310,311}. Las actividades de enzimas oxidativas, como enzimas del ciclo del ácido cítrico y la cadena de transporte de electrones³¹², son también mayores. Esto origina una menor utilización del O₂ por la cadena respiratoria para mantener un nivel de VO₂²³⁰. Además, los músculos requieren un menor porcentaje de su máxima capacidad respiratoria para efectuar el mismo trabajo submáximo²³⁰.

Durante el ejercicio estos cambios se acompañan de una mayor producción y eliminación de lactato; mientras que el pH_i se mantiene a niveles más altos o permanece a niveles similares. La mayor capacidad oxidativa contribuye a la mejoría en la resistencia al esfuerzo submáximo y quizás también en la máxima capacidad de ejercicio³¹³.

Una mayor capacidad oxidativa, como la de los corredores de larga distancia o la de personas que entrenan la resistencia muscular, podría asociarse a menores variaciones en las concentraciones de PCr y Pi para los mismos niveles de ejercicio³¹³.

Estudios experimentales sobre muestras musculares de ratas entrenadas en endurance han mostrado, que el decremento en PCr y el incremento de Pi ha sido menor que en las ratas control para un mismo consumo de oxígeno³¹⁵, proponiendo como efecto del entrenamiento, el incremento adaptativo en la mitocondria muscular³¹⁶⁻³¹⁸. Se han observado resultados similares en otros estudios in vivo de ³¹P-RMN sobre ratas entrenadas en endurance^{313,314,319}.

Un menor descenso de PCr ha sido observado también por técnica de ³¹P-RMN tras la estimulación crónica de músculo esquelético en perros, que produce habitualmente grandes modificaciones del músculo hacia un tipo de fibras lentas con mayor capacidad para la fosforilación oxidativa³²⁰.

La respuesta metabólica muscular al ejercicio incremental en atletas o en sujetos entrenados y los posibles factores involucrados en dicha respuesta han sido investigados en distintos trabajos utilizando la técnica de ³¹P-RMN^{36,102,176,231,321-323}.

Estos trabajos pueden explicar las diferencias en el comportamiento de los parámetros de Pi/PCr y pHi en los sujetos físicamente activos y los controles de nuestro estudio, como derivadas de una adaptación tipo entrenamiento en endurance.

Un menor aumento de Pi/PCr y un mayor pHi podría ser consecuencia de las adaptaciones cardiovasculares al entrenamiento en endurance en grandes grupos musculares; incluyendo un mayor gasto cardíaco máximo, un mayor consumo de oxígeno máximo y un mayor flujo sanguíneo a los músculos^{102,231}.

Las adaptaciones musculares periféricas al entrenamiento en endurance podrían también modificar los parámetro metabólicos en el mismo sentido. El entrenamiento de pequeñas masas musculares ha sido asociado con una reducción de Pi/PCr a intensidades de trabajo submáximas^{36,102,176,322,323} aun sin demostrar mejorías en el consumo de oxígeno máximo¹⁰² ni en el flujo sanguíneo por el entrenamiento^{102,221,231}. En estos trabajos la técnica pletismográfica no demuestra un aumento de flujo sanguíneo que pudiera explicar las determinaciones metabólicas; pero, tampoco descarta la posibilidad de una más efectiva redistribución y utilización del flujo existente; un más prolongado tiempo de tránsito de la sangre debido a una capilarización aumentada y una menor distancia de la difusión de oxígeno asociada a una mayor densidad mitocondrial debería estimular la extracción de oxígeno en sangre²³¹.

El pHi y Pi/PCr en el umbral han sido utilizados en algunas publicaciones, como marcadores de la función mitocondrial; y han sido comparados con la composición de fibras musculares y marcadores enzimáticos del ciclo del ácido tricarboxílico (citrato sintetasa, CS) en muestras de biopsia. Se han encontrando correlaciones significativas entre la actividad CS, el Pi/PCr^{216,231}, y la composición del tipo de fibras²⁰⁴.

El desacondicionamiento físico debido a la actividad física reducida, común en pacientes con enfermedades crónicas así como en sujetos sanos que adoptan un estilo de vida sedentario, producirían modificaciones metabólicas en sentido inverso. Los efectos del desacondicionamiento sobre la estructura y el metabolismo muscular incluyen la atrofia muscular, la reducción en el contenido mitocondrial de enzimas oxidativos, una mayor producción de ácido láctico y una mayor acidificación durante el ejercicio y la conversión a una más anaeróbico tipo de fibras musculares^{38,40,49,306,324-327}.

Distintos trabajos con técnica de ^{31}P -RMN han demostrado el efecto de las adaptaciones periféricas musculares tras el entrenamiento en endurance, sobre las modificaciones en los parámetros metabólicos observadas durante el ejercicio incremental^{270,321,322}.

Stratton y col³²² y Minotti³²¹, en distintos trabajos, investigaron la respuesta del Pi/PCr y del pH_i al ejercicio progresivo en los músculos flexores de la muñeca, tras el entrenamiento de la musculatura del antebrazo no dominante (el brazo dominante se utilizó como control), en pacientes con insuficiencia cardíaca^{321,322}. Tras el entrenamiento, la duración del ejercicio incrementó significativamente, y los valores de Pi/PCr fueron menores y de pH_i mayores a niveles submáximos; atribuyendo este efecto los autores a una mejor capacidad oxidativa local. La pletismografía no mostró un aumento del flujo tras el entrenamiento³²¹. En nuestro trabajo no se han realizado mediciones de flujo local, por lo que no se puede valorar la influencia del flujo sanguíneo sobre los parámetros metabólicos implicados.

En la misma línea, de atribuir un papel destacado a las adaptaciones musculares periféricas en programas de entrenamiento, más recientemente Sala y col.²⁷⁰ compararon las adaptaciones fisiológicas de VO_2 , VCO_2 , V_E gases arteriales y venosos femorales, flujo sanguíneo local femoral (QO_2) sobre un cicloergómetro; y las variables bioenergéticas de pH_i, Pi/PCr, τPCr a través de un protocolo incremental en músculo cuádriceps, tras 8 semanas de entrenamiento en 13 pacientes y 8 sedentarios con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Tras el entrenamiento mejoró la bioenergética muscular disminuyendo el ([Pi] / [PCr]) y aumentando el pH_i de forma significativa a nivel submáximo, mientras que la razón $\text{VO}_2 / \text{VCO}_2$ aumentó significativamente.

Los resultados fueron interpretados por los autores como consecuencia de que los cambios fisiológicos beneficiosos del entrenamiento ocurren a nivel muscular durante el ejercicio submáximo. El aumento en VO_2 fue interpretado como consecuencia de los cambios musculares mencionados. Los autores sugirieron, además, que el desacondicionamiento físico puede intervenir la alterada bioenergética muscular de pacientes con EPOC

Un efecto de desacondicionamiento ha sido involucrado como responsable de las diferencias bioenergéticas demostradas en miembros no dominantes frente a dominantes en sujetos sanos^{230,231}. Se ha demostrado un mayor incremento en Pi/PCr y menor pH_i en respuesta al ejercicio incremental sobre músculos de la muñeca del brazo dominante; sugiriendo los autores que las actividades de la vida diaria son de suficiente intensidad para

ofrecer un estímulo de entrenamiento en el miembro dominante, y además, que este efecto de entrenamiento afecta de forma primaria al metabolismo aeróbico.

El grupo de sujetos FA de nuestro estudio, realiza habitualmente actividades que involucran preferencialmente los músculos de la pantorrilla. El conjunto de variables estudiadas durante el ejercicio incremental y sus diferencias frente a la población control podrían ser explicadas como derivadas de una mayor capacidad oxidativa del músculo como consecuencia de sus adaptaciones periféricas, en relación a un efecto de tipo entrenamiento aeróbico, sin que se puedan excluir que las adaptaciones cardiovasculares influyan en esta respuesta.

10.4. EJERCICIO CONSTANTE

Los 24 sujetos de la muestra realizaron el ejercicio al 70% de la PMT después de comprobar la vuelta a las condiciones basales de los parámetros metabólicos. La duración del ejercicio fue variable, entre 7 minutos y 26 minutos; por ello, aunque se registraron los datos espectrales de todos los sujetos a lo largo del ejercicio, las comparaciones de los datos se realizaron en estos siete minutos. El registro de los valores de las variables del final del ejercicio permitió además estudiar el metabolismo energético del músculo durante la recuperación.

Con el ejercicio la PCr disminuyó hasta un $49,60 \pm 2,40$ % del valor de reposo, mientras que Pi aumentó, alcanzándose la estabilización de los valores de los parámetros metabólicos en menos de 2 minutos. La Pi/PCr mostró una cinética algo más lenta (Gráficos 9.16 – 9.18). Estos valores de Pi, PCr, Pi/PCr se mantuvieron estables en el conjunto de la población durante los 7 minutos estudiados y no se demostraron diferencias significativas en las determinaciones de los metabolitos fosforilados entre los valores mostrados a los siete minutos y los mostrados al final del ejercicio. Los valores de reposo, a los 3 y 7 minutos y al final del ejercicio se recogen en la Tabla 9.12.

El ATP se mantuvo constante a lo largo del ejercicio (Gráfico 9.19).

Al igual que en el protocolo incremental estudiamos las correlaciones de los parámetros metabólicos; decrementos menores de PCr a los 7 minutos se asociaron con cambios menores en Pi y valores más bajos de Pi/PCr y pHi más altos. (Tabla 9.13).

Los niveles de estabilización fueron significativamente diferentes en los sujetos FA frente a los C, con valores de PCr más elevados y niveles de Pi y Pi/PCr más bajos en los sujetos FA. (Gráficos 9.20 - 9.22).

Todos los sujetos efectuaron el ejercicio a un mismo nivel de porcentaje respecto a sus posibilidades de potencia individuales; en general, aun cuando las diferencias no fueron significativas, el nivel de potencia (vatios) del trabajo en los sujetos FA fue algo superior que en los sujetos C.

Como en nuestro trabajo distintos estudios de ^{31}P -RMN han mostrado que la hidrólisis de PCr se estabiliza frente a un ejercicio de carga constante de mediana intensidad^{109,127,163}. En la mayor depleción de PCr podría haber influido la intensidad de ejercicio individual^{148,175}, aunque en conjunto ésta resultó algo mayor en el grupo de FA.

La respuesta al ejercicio constante del pHi en nuestro estudio fue también bifásica, como en el ejercicio incremental; con una ligera alcalosis en el primer minuto de ejercicio que se siguió de una ligera acidificación muscular. En el conjunto de la población el pHi se acidificó ligeramente a lo largo del ejercicio, sin mostrar diferencias significativas frente al reposo al final del mismo (pHi al reposo = $7,01 \pm 0,021$ y pHi final = $6,92 \pm 0,03$). (Gráfico 9.23) Los resultados también mostraron que la acidificación fue significativa al final del ejercicio para los controles (C- pHi al final = $6,86 \pm 0,053$; $P < 0.001$), pero que no mostró diferencias con el grupo de sujetos FA (FA-pHi al final = $6,97 \pm 0,03$). (Gráfico 9.24)

El ejercicio permitió la estabilización de la PCr, pero las variaciones en el pHi no justifican el estado-estable. Este comportamiento podría ser explicado por el nivel de carga fijado para el protocolo. Aunque todos los sujetos trabajaron al mismo nivel de carga relativa (70% MPT), su estado metabólico resultó ser diferente a este nivel.

Hay que tener en cuenta que, el nivel de trabajo en el que se situó el IT pHi durante el ejercicio incremental se localizó en la población de FA por encima de este nivel (FA-ITpHi $76,30 \pm 4,67$ %), mientras que en la población C se situó muy por debajo (C-ITpHi $46,05 \pm 2,64$ %) como ha sido anticipado.

Estas diferencias en los IT frente a la carga del ejercicio en ambos grupos de sujetos justifican una apreciable aunque no significativa mayor acidificación en los sujetos control.

Hemos estudiado también, en este protocolo constante, el comportamiento de las pendientes p_{Hi} / W_2 frente a PCr / W_2 , (Gráficos 9.25a, 9.25b, 9.26a y 9.26.b) en las dos poblaciones. Los resultados obtenidos han sido similares a los obtenidos en el ejercicio incremental; los sujetos FA han mostrado una mayor pendiente asociada a una menor contribución glicolítica en el metabolismo muscular que explicaría también el ambiente metabólico diferente de estos sujetos al 70% de PMT

10.4.1. Cinética de la PCr al comienzo del ejercicio

Los resultados de nuestro trabajo durante la transición al comienzo del ejercicio de la PCr y el Pi mostraron una evolución que se ajustó a una función mono-exponencial con valores de τ (constante de velocidad) $\tau_{PCr} = 37.3 \pm 2.3$; $\tau_{Pi} = 33.09 \pm 2.00$; $\tau_{Pi/PCr} = 45,5 \pm 3,0$ en el conjunto de la muestra estudiada (Tabla 9.14). Cinéticas más rápidas (τ PCr menores) se asociaron con valores de estabilización más altos de PCr, p_{Hi} y más bajos de Pi, y Pi/PCr (Tabla 9.13)

Los valores de τ_{PCr} de este estudio se correspondieron con valores cinéticos similares observados en diversos trabajos por técnica de RMN de alta resolución, con constantes de tiempo calculadas de aproximadamente 30 segundos^{48,128,201,292,293}.

Para Binzoni y Cerretelli^{127,328} el modelo matemático propuesto para describir la hidrólisis de la PCr al comienzo del ejercicio de carga constante demostraría que las diferencias en los valores de la constante de velocidad de la hidrólisis de PCr (" τ " o constante de velocidad) estarían originadas por las características aeróbicas de la masa muscular investigada³²⁹. Valores cortos de " τ " son esperados en músculos caracterizados por una alto potencial oxidativo, tal como el sóleo-gastrocnemius de atletas de endurance. Contrariamente, valores relativamente largos de " τ " son esperados en atletas de potencia o en el mismo sujeto en los músculos de los brazos en relación con los músculos de las piernas³²⁸.

Otro área para la cual los autores proponen el interés de esta aproximación es el estudio de la hipoxia tanto aguda como crónica. En estas últimas condiciones otro factor relevante que puede afectar a la " τ " es la PO_2 de los tejidos³²⁸.

La posible influencia de la intensidad del ejercicio sobre la cinética de PCr ha sido estudiada en algunos trabajos en los que someten al músculo a distintos niveles de carga, los resultados parecen indicar que las cinéticas son independientes de la carga.

Así, Yoshida y col.³³⁰ estudiaron el músculo triceps sural con una bobina de 8 cm de diámetro, a tres intensidades de esfuerzo, 18%, 39% y 60% de la máxima intensidad alcanzada en un ejercicio incremental, durante 4 minutos y τPCr = 27-33 s y τPi = 17-31s; también se estudió la recuperación del ejercicio. Los autores concluyeron que en general el curso de la PCr tanto en el comienzo del ejercicio como en la recuperación no fueron afectadas por la intensidad del esfuerzo. Observaron también que la interrelación entre el cambio de PCr y pHi fue similar e independientemente de la intensidad del ejercicio.

También Binzoni y col.¹²⁷ estudiaron la respuesta energética de los músculos flexores plantares de 13 sujetos sanos, obtenidas a diferentes cargas de trabajo submáximo que no produjeron disminuciones de pHi, resultando en una τPCr = 23,3 s que fue independiente del trabajo realizado.

La comparación de los resultados de los distintos trabajos publicados presenta algunas dificultades asociadas, entre las que se encuentran, las diferentes intensidades de ejercicio utilizadas, el tamaño de las bobinas de captación y emisión de la señal, las características del espectrómetro, los distintos músculos estudiados, el diferente nivel de acondicionamiento de los sujetos, o el modelo utilizado para el ajuste de los datos, pero apoyan la importancia del umbral del ejercicio incremental (IT) en la determinación de la carga del ejercicio constante en los distintos músculos estudiados.

Así, Marsh y col.¹²⁸ fijaron la intensidad del ejercicio sobre el 90% del IT obtenido del estudio de un protocolo incremental realizado previamente, los valores de pHi se mantuvieron constantes en los 5 minutos que duró el ejercicio. En su trabajo se obtuvieron valores medios de τPCr = 33.5 s y τPi = 32,1 en 5 sujetos sobre músculos flexores de muñeca. No se encontraron diferencias significativas con los datos de la recuperación de PCr y Pi en el mismo ejercicio.

McCann y col.⁴⁸ estudiaron también los músculos flexores de muñeca, con una bobina de 2,5 cm de diámetro, a intensidades de trabajo moderadas e intensas. El trabajo moderado resultó en una τPCr = 33 s y τPi = 38s estabilizándose las variables en 90s; cuando la

intensidad fue alta no se consiguió una estabilización de PCr que siguió descendiendo a lo largo del ejercicio.

Unas $\tau\text{PCr} = 26,3 \pm 17,3$ s y $\tau\text{Pi} = 30,7 \pm 22,5$ s fueron los resultados obtenidos por Barstow y col.¹⁰⁹ en 5 sujetos con un ejercicio de flexión plantar de 6 minutos de duración, realizado a un 60% de la MPT lograda en un test incremental en un ejercicio en rampa; aunque los sujetos lograron una estabilidad para la PCr, en dos sujetos se produjo una relativa acidosis respecto al valor de reposo ($\text{pHi} = 6.85$ y 6.92).

Un comportamiento similar fue observado por McCreary y col.¹⁶³ en 11 sujetos (7 varones y 4 mujeres) con una acidificación moderada ($6,88 \pm 0,03$; mínimo de 6.71) sobre un pHi basal medio de $7,01 \pm 0,01$. Para establecer el nivel del ejercicio constante, se identificó el IT de pHi durante el ejercicio incremental previo, que ocurrió al 74% de la potencia en pico o MPT. La carga se ajustó entonces al 90% de este umbral (IT) en 6 sujetos; y debido a las dificultades técnicas, para los otros 5 sujetos, se estimó el nivel de carga en un 50% de la PMT individualmente. La potencia promedio del ejercicio se situó por tanto al 58% de la potencia en pico o al 82% de la carga del umbral; sin embargo, los autores dudan de la correcta estimación del IT en su trabajo. La “ τ ” para PCr y Pi alcanzaron un valor medio \pm SE de $\tau\text{PCr} = 47.0 \pm 5,7$ s ; $\tau\text{Pi} = 57,7 \pm 8,1$ s y no difirieron de los valores registrados durante la recuperación. En este trabajo como en el de Binzoni¹²⁷ se hace un estudio comparativo de las cinéticas de PCr con las cinéticas de VO_2 pulmonar (fase 2) sin encontrar diferencias significativas.

La determinación de los umbrales resultó dificultosa en nuestro trabajo de ^{31}P -RMN. El procedimiento de cálculo de este umbral precisa un estudio previo de los espectros durante la obtención de los datos y luego un ajuste individual para cada sujeto de la muestra. El análisis no es por tanto inmediato.

Estas limitaciones técnicas y el desarrollo sucesivo de los protocolos en el tiempo, hizo inviable la posibilidad de obtener los datos en el momento del estudio. Los ejercicios previos a este análisis, realizados para la puesta a punto del protocolo, no apuntaron descensos en los valores de pHi al 70% de la MPT en los sujetos involucrados.

10.4.2. Influencia de la actividad física en el ejercicio constante

Las constantes de tiempo individuales en el conjunto de la muestra estudiada fueron muy variables y se situaron en un rango entre los 18.26 y 61.64 segundos. Los sujetos físicamente activos mostraron τPCr significativamente menores ($\tau\text{PCr} = 29.7 \pm 2.07$) que en la población de sedentarios ($\tau\text{PCr} = 44.9 \pm 2.8$) y sus cinéticas más rápidas se asociaron a niveles de depleción menores de PCr (FA- %PCr de reposo $= 55.07 \pm 3.67$; y C- %PCr de reposo $= 42.75 \pm 2.77$). (Tabla 9.14)

Cinéticas más rápidas de depleción de PCr (τPCr) se correlaron significativamente con umbrales más altos de ITpHi y IT Pi/PCr en el ejercicio progresivo. (Tabla 9.13)

Las cinéticas de Pi y Pi/PCr se mostraron también más rápidas aunque no significativamente diferentes entre los sujetos FA y C. (Tabla 9.14)

Una “ τ ” más rápida en la población activa significaría una mayor rapidez en los procesos regenerativos de ATP en estos sujetos³²⁸ que dependen a su vez de reacciones enzimáticas de las mitocondrias. Una respuesta más rápida podría ser debida a una mayor actividad enzimática y/o a una mayor concentración de mitocondrias funcionalmente idénticas; en este último caso, para sostener una potencia submáxima(W) dada, la masa mitocondrial necesitaría activarse en menor extensión, lo que a su vez implicaría un tiempo menor para alcanzar el estado estable; y una mayor concentración de PCr una vez alcanzado el estado estable^{306,328}. El mayor potencial aeróbico muscular (debido a las mejores propiedades aeróbicas y /o a una mayor densidad mitocondrial) haría necesarias concentraciones menores de ADP para sostener el mismo consumo de oxígeno muscular^{306,328}.

Cinéticas más rápidas y valores de estabilización menores de PCr como los encontrados en nuestro trabajo han sido asociados a una mayor capacidad aerobia en sujetos entrenados en endurance.

Yoshida y col.²²³ estudiaron con técnica ^{31}P -RMN la velocidad de cambio en el músculo triceps sural de metabolitos como PCr, Pi y la Pi/PCr en cinco corredores de larga distancia y seis sujetos control al realizar una flexión de rodilla a 20Kg. M. Min^{-1} durante 2 minutos. Los corredores de larga distancia mostraron una evolución monoexponencial de decremento de PCr e incremento de Pi al comienzo del ejercicio con una cinética significativamente más rápida que en los sujetos control. Los niveles de PCr alcanzados durante el ejercicio fueron

también significativamente mayores en estos sujetos y la Pi/PCr alcanzada durante el ejercicio fue significativamente menor. Los autores sugirieron que las diferencias podrían explicarse por la mayor capacidad oxidativa de los músculos de los corredores de larga distancia, con mayor distribución de fibras lentas.

En un estudio más reciente Yoshida y col.³⁷ compararon las respuesta energética muscular del bíceps femoral en tres grupos de sujetos, sedentarios, esprinters y corredores de larga distancia, a 1,63W (18-23% de PMT) y a 4,90W (54-70% de PMT) durante 4 minutos, sugiriendo de nuevo que las diferentes respuestas encontradas en los corredores de larga distancia frente a los sujetos control podían ser atribuidas a su mayor capacidad para el metabolismo aeróbico. Los resultados mostraron que a una intensidad de trabajo dada, el nivel de PCr de corredores de larga distancia fue significativamente mayor que la de los sedentarios; y que las cinéticas de tránsito del ejercicio y las de la recuperación para la PCr y Pi fueron también significativamente más rápidas en estos sujetos. Tanto durante el ejercicio como luego, durante la recuperación, los corredores de larga distancia y los esprinters mostraron una significativa menor acidificación que los sujetos sedentarios. Durante el ejercicio el Pi/PCr mostró una cinética más lenta de alrededor de 57 segundos, y más ajustada a una función lineal que exponencial con valores de estabilización más bajos en los atletas.

La comparación en el comportamiento cinético de los parámetros metabólicos musculares en la población de atletas de estos trabajos con el comportamiento cinético de los parámetros metabólicos musculares de los sujetos FA de nuestro estudio, sugieren que las diferencias encontradas durante el ejercicio, puedan deberse a un efecto de entrenamiento, y por tanto, a una mejor capacidad oxidativa de este grupo de nuestra muestra.

El estudio de la cinética evolutiva del ejercicio a carga constante muestra además un ligero aumento en los valores de PCr a partir del minuto 9 aproximadamente y hasta el final del ejercicio en varios sujetos de nuestro estudio. (Gráfico 9.27)

Son escasos los trabajos experimentales que hayan descrito un comportamiento similar de la PCr al ejercicio y este hecho ha sido escasamente investigado^{165,331}. El fenómeno resulta paradójico pues ocurre en una situación de alta demanda de ATP y la resíntesis neta de PCr se observa usualmente durante la recuperación post- ejercicio tan pronto como el músculo disminuye o deja de producir trabajo mecánico. Se ha sugerido que la resíntesis neta de PCr

observada durante la fatiga mecánica tras la estimulación directa del músculo gastrocnemius de rata podría ocurrir en fibras inactivadas como resultado de la fatiga muscular; lo que también era sugerido por el hecho de que el aumento de PCr no se acompañaba de una mejoría en la producción de fuerza³³¹. Resultados sobre músculo gastrocnemius de rata eléctricamente estimulado, demuestran que la resíntesis de PCr no ocurre cuando el músculo es estimulado en situaciones de isquemia; y que por tanto, este fenómeno paradójico está exclusivamente ligado a la producción oxidativa de energía y podría ocurrir en fibras inactivas de forma similar a la resíntesis post-ejercicio¹⁶⁵

Al finalizar el ejercicio los resultados de las variables metabólicas PCr, Pi, pHi, ATP no se mostraron significativamente diferentes a las observadas a los 7 minutos. Los sujetos físicamente activos mostraron valores significativamente más altos de PCr, pHi, y más bajos de Pi. Estos datos fueron utilizados para calcular el inicio de la recuperación.

10.5. RECUPERACION

10.5.1. Cinética de la recuperación

Se describieron en el presente trabajo las cinéticas de recuperación de los metabolitos fosforilados a través de funciones mono-exponenciales para las que se estimaron las constantes de tiempo " τ " usando ajustes de regresión no lineal para cada experimento. Se utilizó la misma aproximación en ambos protocolos, incremental (o máximo) y constante (o submáximo). La cinética del pHi no siguió la cinética descrita por los metabolitos fosforilados durante la recuperación. En todos los casos se consideró el último registro del ejercicio como primer dato para la estimación de la recuperación.

Tras un ejercicio submáximo, el curso cinético de la recuperación de la PCr muscular ha sido comúnmente modelado usando una función matemática mono-exponencial y su " τ " constante de resíntesis de PCr (τ PCr), aceptada como un índice de la capacidad oxidativa muscular^{70,174,176,332} independiente de la masa muscular y del trabajo.

De hecho, la τ PCr está relacionada con el VO_2 en pico^{173,176} y con el $\text{VO}_{2\text{max}}$ ¹⁷⁴; está acortada en músculo humano entrenado en endurance como consecuencia de una mejoría en la función mitocondrial^{176,177,333}; presenta correlación con la actividad citrato sintetasa^{172,239}; y

finalmente en estudios sobre ratas, se muestra independiente a un rango extenso de frecuencias de estimulación indicando una interrelación con la capacidad oxidativa muscular⁸³.

Estas interrelaciones muestran que la τPCr puede ser usada como una estimación directa de la capacidad oxidativa sólo cuando es medida tras ejercicios que originan limitados cambios de PCr con homeostasis de pHi. Sin embargo, un cambio en el pHi afectará al equilibrio de la CK y así a la recuperación de la PCr^{255,274,334-336}.

Por tanto, bajo condiciones severas de ejercicio, es decir, asociado a grandes variaciones metabólicas, con acidosis significativa y una gran cantidad de PCr consumida al final del ejercicio, el uso de la τPCr como reflejo directo del metabolismo oxidativo resulta cuestionable⁹².

Hemos estudiado en este trabajo las cinéticas de recuperación de los metabolitos fosforilados en los dos ejercicios máximo y submáximo, y el comportamiento cinético de los sujetos físicamente activos frente a los controles en ambas situaciones

Las τPCr calculadas presentaron valores muy variables, que se situaron en un rango entre 15.11 y 85.93, para las dos poblaciones de sujetos y tras las dos intensidades de ejercicio.

No se mostraron diferencias significativas en función de la intensidad del ejercicio para los valores de la τPCr en el conjunto de la población estudiada, con estimaciones medias en el ejercicio incremental (I) de $I\text{-}\tau\text{PCr} = 41.04 \pm 3.03$ y de $\text{CT-}\tau\text{PCr} = 34.82 \pm 3.41$, para el ejercicio constante (CT) (Gráfico 9.28)

Tras el ejercicio constante donde se realizó un trabajo submáximo las τPCr , resultaron significativamente más rápidas en la población de sujetos FA, frente a la población C ($\text{FA-}\tau\text{PCr} = 25.0 \pm 2.6$; $\text{C-}\tau\text{PCr} = 44.5 \pm 4.9$) ($p < 0,01$); además, estas diferencias se mantuvieron también en la recuperación del protocolo incremental ($\text{FA-}\tau\text{PCr} = 33.57 \pm 3.92$; $\text{C-}\tau\text{PCr} = 48.51 \pm 3.60$) ($p < 0,05$) donde se realizó un trabajo de máxima intensidad. Por tanto, las diferencias en las τPCr , se relacionaron más con la condición de actividad física de los sujetos que con la intensidad del ejercicio efectuado.

Las cinéticas de recuperación de Pi/PCr ($\tau\text{Pi/PCr}$) resultaron algo más rápidas en los sujetos FA en ambas condiciones de ejercicio (Gráfico 9.29)

Los sujetos FA presentaron cinéticas de recuperación de Pi (τ Pi) a su vez, que resultaron significativamente más rápidas frente a la población C en ambas intensidades de ejercicio. Para el ejercicio CT la τ Pi resultaron en valores para los sujetos FA- en τ Pi = 24.5 ± 2.2 ; y C- τ Pi = 34.0 ± 3.5 ($p < 0,05$), y en el ejercicio I, con FA- τ Pi = 27.36 ± 1.89 ; y C- τ Pi = 39.89 ± 3.76) ($p < 0,01$) (Gráfico 9.30)

10.5.2. Influencia del ambiente metabólico final del ejercicio sobre la cinética de recuperación de la PCr

Las cinéticas más rápidas en los sujetos físicamente activos de nuestra muestra, en ambos protocolos, podrían responder a una mejor capacidad oxidativa en esta población. Sin embargo, otras circunstancias, como la acidificación del medio intracelular o la intensidad de la depleción de PCr observada durante el ejercicio, podría estar influyendo en los resultados, provocando una más lenta recuperación de PCr fundamentalmente en los sujetos control.

Como se ha referido anteriormente, el ejercicio constante finalizó con una ligera acidificación del medio intracelular en el conjunto de la población estudiada FA y C (CT-pHi = $6.92 \pm 0,03$); pero más intensa en la población control (FA-pHi = $6.97 \pm 0,023$; C-pHi = $6,86 \pm 0,053$) (Gráfico 9.31). Pero fue durante la recuperación, donde el pHi alcanzó su valores mínimos.

Inicialmente, el pHi permaneció al mismo nivel de acidificación o incluso llegó a descender, alcanzando un mínimo entre el 1º y el 2º minuto de la recuperación. El valor mínimo de pHi se expresó como pHi mínimo^{179,337} (CT-pHi mim = $6,7 \pm 0,04$) para ir recuperándose gradualmente hacia niveles pre-ejercicio en los 5-6 minutos siguientes. Durante toda la recuperación los valores de pHi permanecieron más bajos en los C, aunque no significativamente diferentes respecto a los FA.

El decremento del pHi durante la recuperación debería ser visto como el resultado de la rápida resíntesis de PCr que puede ser descrita por la reacción de la CK. El pHi mínimo representa la máxima concentración de H⁺ durante la fase de recuperación en la cual ocurre la resíntesis de PCr.

La mayoría de los estudios de resíntesis de PCr refieren solamente el pHi final del ejercicio en sus trabajos; para algunos autores, el uso del pHi mínimo es más deseable que el pHi

final del ejercicio para evaluar el efecto del pHi ($[H^+]$) sobre la cinética de recuperación de la PCr^{179,337}. Estos autores han demostrado más altos coeficientes de correlación entre el pHi mínimo y la τ PCr, que con el pHi final durante ejercicios severos y exhaustivos, sugiriendo el gran efecto de este pHi mínimo sobre la recuperación.

Tras el ejercicio incremental la acidificación intracelular fue significativamente más intensa en el conjunto de la muestra que en el ejercicio constante, pero mostró una evolución cinética similar. Los valores de pHi al final del ejercicio y los pHi mínimos fueron más bajos (I-pHi = 6.738 ± 0.046 ; I-pHi min = 6.542 ± 0.043) ($p < 0.001$)

Además, los sujetos FA mostraron una menor acidificación al final del ejercicio incremental y un pHi mínimo superior. Así en los sujetos FA, el I-pHi = 6.9 ± 0.035 y el I-pHi min = 6.698 ± 0.05 . Para los sujetos C, el I-pHi = 6.576 ± 0.054 y el I-pHi min = 6.387 ± 0.031 ($p < 0.001$)

Las comparaciones de los pHi entre los dos protocolos de ejercicio I y CT demostró que la acidificación resultante al final del ejercicio fue significativamente mayor en el ejercicio incremental tanto en los sujetos C como en FA. Los valores de pHi de este último grupo, resultaron más elevados (valor medio de 6.9).

Por tanto, el ambiente metabólico diferente al finalizar los protocolos, condicionado quizás en parte por el distinto comportamiento de las dos poblaciones de sujetos, y también por las intensidades de los ejercicios ha podido contribuir a las cinéticas más lentas fundamentalmente en la recuperación de PCr en los sujetos control.

La gran variabilidad en los parámetros de recuperación de PCr, como la observada en el presente estudio, ha sido referida por distintos autores^{13,189} y tras distintas condiciones de ejercicio^{170,215}. En general, de sus reflexiones se destaca, además, la importancia del estado metabólico al final del ejercicio como fuente de variabilidad¹⁷⁰ y se pone en evidencia la dificultad de utilizar los parámetros de recuperación de la PCr como índice de respiración mitocondrial.

Considerando la sensibilidad de la τ PCr con los parámetros de depleción de PCr al final del ejercicio y pHi final y pHi mínimo, se estudió la posible interrelación entre estas variables.

Al igual que en estudios previos^{49,83,228,239,333,338,339}, se demostró tanto en el ejercicio incremental como en el constante, una correlación lineal de la τ PCr con la acidosis

intracelular, pHi final y pHi mínimo, significando que una mayor acidosis se asoció con valores más altos de τ PCr. También se demostró una interrelación significativa entre la τ PCr con la cantidad de PCr consumida (% PCr del reposo), lo que ilustró que un incremento en el consumo de PCr durante el ejercicio se acompañó con un aumento de los valores de τ PCr. (Tabla 9.15 y 9.16.)

Sin embargo, el estudio de las interrelaciones de la τ PCr con los parámetros metabólicos anteriores en los dos grupos de la muestra, no demostró significación en los sujetos FA, pero sí en los sujetos C. (Tabla 9.17 y 9.18) Una menor acidificación y una menor depleción de PCr en el grupo de FA puede contribuir a explicar esas diferencias. Los resultados anteriores confirman por otra parte, la influencia del estado metabólico del final del ejercicio sobre la recuperación de PCr en los sujetos C, pero no se puede descartar sobre los sujetos FA.

Observaciones similares a las expuestas en este trabajo han sido referidas por Roussel y col²²⁸, al estudiar la interrelación entre los parámetros cinéticos de recuperación de la PCr (τ PCr) y el estado metabólico del final del ejercicio bajo condiciones de acidosis inducidas por intensidades de trabajo moderadas e intensas. Los autores definen, además, un conjunto de ecuaciones, con los parámetros metabólicos interrelacionados, para permitir comparaciones entre músculos control, enfermos y entrenados. También destacan, que otros parámetros de la cinética de la PCr post-ejercicio, como la velocidad inicial de recuperación de la PCr, que se presentaron constantes e independientes de las condiciones metabólicas del final del ejercicio; podrían ser usados, adicionalmente, en la identificación de disfunciones en la vía metabólica oxidativa.

Takahashi y col⁴⁹, estudiaron también el efecto de la disminución de pHi sobre la resíntesis de PCr post-ejercicio en un grupo de 5 corredores entrenados en endurance frente a 7 controles. Encontraron cinéticas de PCr constantes a intensidades bajas de trabajo con una KPCr (inversa a la τ PCr) de 39.2 ± 2.7 s con un rango entre 49.8 y 30 s (1.6 veces) para el ejercicio ligero en los sujetos control. Cuando aumentó la intensidad del ejercicio la KPCr 69.2 ± 4.9 s, se situó en un rango entre 95.2 y 55.2 s (1.5 veces), correlandose sus valores con la PCr y pHi finales del ejercicio

Estos resultados son similares a los obtenidos por otros autores en músculos de pantorrilla y antebrazo^{189,340,341}.

Aunque cabría esperar en los resultados del trabajo de Takahashi y col⁴⁹, cinéticas algo más rápidas a intensidades de trabajo bajas, como consecuencia de la posiblemente mayor capacidad oxidativa de los sujetos entrenados; los resultados de la KPCr no se mostraron diferentes para los mismos niveles de PCr entre atletas y controles, lo que fue atribuido a la posible heterogeneidad de la muestra en la población control.

Cinéticas más lentas de recuperación de la PCr han sido relacionadas a una más lenta recuperación del pHi debido al desplazamiento, pHi dependiente, del equilibrio de la CK^{55,147}; Otros autores atribuyen las diferencias obtenidas a la afectación de la actividad mitocondrial por el estado metabólico del final del ejercicio^{70,86}.

En el presente estudio a pesar de demostrarse una interrelación entre el pHi mínimo y la τ PCr en los sujetos C, no se ha demostrado ninguna una relación entre la τ PCr y el tiempo en el que aparece el valor de pHi mínimo durante la recuperación (t_p pHi mínimo).

Ciertas consideraciones deben llevarnos a analizar nuestros resultados con precaución. Así, los valores de pHi mínimo de 6.50 – 6.80 y los valores de pHi al final del ejercicio de 6.75- 6.90 , como los calculados en este trabajo parecen afectar sustancialmente el equilibrio de la CK⁴⁹.

Además, las depleciones importantes de PCr como las aquí recogidas (%PCr rep = 30.75% \pm 2.36) han podido contribuir a cinéticas más lentas. Las correlaciones demostradas entre los valores finales de ejercicio y la τ PCr confirman esta relación. La depleción de PCr y la disminución del pHi resultaron ser menores al final del ejercicio constante; sin embargo, la interrelación entre la τ PCr y las variables en el final del ejercicio se mantuvieron en el conjunto de la población estudiada.

Contrastados así los resultados de este trabajo con estudios previos ya referidos, se podría pensar que el ambiente metabólico presente al final del ejercicio ha podido contribuir a las cinéticas más lentas de recuperación de PCr.

Sin embargo, no hemos podido demostrar esta interrelación y el ambiente metabólico entre los sujetos FA, en ninguno de los dos niveles de intensidad de ejercicio. La menor acidificación y la menor depleción de PCr finales en estos sujetos, han podido contribuir a cinéticas más rápidas que a su vez han podido implicar una más alta capacidad metabólica integrada en esta población de sujetos, y no sólo una mayor capacidad oxidativa.

El desconocimiento hasta la fecha, de los mecanismos que subyacen a la recuperación de la PCr, ha hecho común el ajuste de la cinética de la PCr a funciones matemáticas basadas en reacciones químicas de primer orden, como el modelo de cinética monoexponencial, utilizado en este trabajo.

Este modelo, como se ha comentado al comienzo de este apartado, explica la dependencia lineal de los cambios de la PCr sobre la respiración mitocondrial⁷⁰, sólo bajo condiciones que incluyen un pHi cercano al reposo¹⁷². Pero cuando el pHi es bajo, otros modelos son utilizados en la literatura y distintos trabajos han comparado la calidad de estas aproximaciones^{342,343}.

Uno de los modelos utilizados para describir la recuperación de la PCr es una ecuación biexponencial³³². La aplicación de este modelo se basa en que cuando la contracción es intensa y el pHi y / o la [ATP] cambia significativamente, aparecen en la resíntesis de PCr dos fases; una fase inicial rápida, seguida por una segunda fase de más lenta. La función es mejor descrita por una doble exponencial^{55,172,244,344,345}.

En los primeros estudios ³¹P-RMN en los años 80^{274,335,346} se sugirió el impedimento de la resíntesis de PCr al menos durante una parte del proceso de recuperación; pero fueron los resultados de Mc Cann y col 1995⁴⁸, los primeros en demostrar el papel de la acidosis en el proceso de resíntesis. La demostración de correlaciones entre el pHi y la cinética del PCr^{49,347,348} reforzó el papel del pHi en la inhibición de los últimos estadios de su recuperación.

Se ha apuntado también la posibilidad de que esta fase de más lenta resíntesis de la PCr puede haber sido causada por una pérdida del pool de nucleótidos de adenina durante el ejercicio; una reducida [ATP] debería manifestarse por una menor capacidad para refosforilar creatina¹⁷⁰.

Sin embargo, se ha observado una recuperación bifásica cuando la [ATP] permanece a niveles de reposo^{48,255} sugiriendo que aunque un descenso en la [ATP] debería influir en la velocidad absoluta de ambas fases, el componente lento es inhibido por la acidosis mientras que la inicial cinética de recuperación de PCr está regulada por algún otro factor.

10.5.3. Velocidad inicial de la recuperación de la PCr

Hoy en día, es admitido en la literatura el papel de la acidosis sobre la fase tardía de la recuperación de la PCr; sin embargo, y dado que en la mayoría de los estudios se describen cinéticas rápidas de resíntesis aún cuando el pH_i sea muy bajo, algún otro factor debe controlar la cinética de la PCr en los estadios iniciales de recuperación siguiendo el ejercicio¹⁷⁰.

Diversos autores han estudiado la velocidad inicial de la resíntesis de PCr sugiriendo que esta fase inicial no está afectada por la acidosis intracelular, y por tanto permanece constante, independientemente de las condiciones metabólicas dentro de la célula muscular al final del ejercicio^{55,228}.

Hemos calculado en el presente estudio la velocidad inicial de resíntesis de PCr (Vi-PCr) como la derivada de la función monoxponencial en el comienzo de la recuperación (pendiente inicial). Para su estimación hemos utilizado dos aproximaciones, como hemos referido en material y métodos.

Como producto de la KPCr (constante de velocidad) por el PCr consumido al final del ejercicio, expresado como porcentaje respecto al valor de reposo. (Vi-\%PCr); y como producto de la KPCr por la concentración de PCr (Vi-[PCr]). Esta última aproximación es utilizada frecuentemente en la literatura^{55,228,233}, y se ha demostrado útil para comparar la recuperación de sujetos con distintos niveles en su estado físico²³³.

Los resultados de Vi-\%PCr , fueron significativamente diferentes entre las dos intensidades de ejercicio, incremental y constante; pero su cinética se mostró significativamente más rápida en los sujetos FA, en ambas intensidades de ejercicio. (Tabla 9.19). No se ha mostrado ninguna correlación entre este parámetro y el pH_i del final del ejercicio, ni en los distintos protocolos ni en las distintas poblaciones Tabla 9.20a y 9.20b

Los resultados de Vi-[PCr] , resultaron mostrarse algo más restrictivos. Tampoco se demostraron diferencias entre las dos intensidades de ejercicio, incremental y constante ($\text{I-Vi[PCr]} = 34.43 \pm 2.6 \text{ mM/min}$ y $\text{CT-Vi[PCr]} = 29.38 \pm 2.6 \text{ mM/min}$); y las cinéticas iniciales fueron significativamente más rápidas en los sujetos FA ($\text{FA-Vi[PCr]} = 37.82 \pm 2.80 \text{ mM/min}$ y $\text{C-Vi[PCr]} = 25.99 \pm 2.39 \text{ mM/min}$) ($P < 0.001$). Tabla 9.22

Sin embargo, si se mostró una correlación entre este parámetro y el pHi del final de los ejercicios incremental y constante. La Vi[PCr] no se mostró correlada con el pHi en los sujetos FA, pero sí con los sujetos C en el ejercicio incremental, por lo que no podemos descartar la influencia del pHi en esta población. (Tabla 9.23a,b, 9.24a,b)

Resultados equivalentes a los nuestros fueron obtenidos por Roussell y col²²⁸, sobre 13 sujetos que efectuaron un ejercicio moderado y un ejercicio pesado. Fue descrita una gran variabilidad interindividual (coeficientes de variación : 43 contra 57% para ejercicio ligero y pesado, respectivamente) y entre protocolos, confirmando además que el pHi jugó un papel significativo en determinar la velocidad de recuperación de PCr durante el ejercicio de alta intensidad.

Los autores concluyeron que la Vi-PCr fue siempre constante independientemente de las condiciones metabólicas dentro de la célula muscular al final del ejercicio (ViPCr mM/min = 13.7 ± 4.9 y 18 ± 10.1 para ejercicio ligero y pesado respectivamente; coeficiente de variación de 36 y 54% en ambas intensidades respectivamente); si bien, la velocidad inicial de resíntesis de PCr se mostró simultáneamente correlada con el pHi y la cantidad de PCr consumido al final del ejercicio²²⁸.

Walter y col⁵⁵, examinaron la interrelación entre la velocidad de resíntesis de PCr siguiendo el ejercicio intenso y la capacidad oxidativa del músculo esquelético, en tres protocolos de ejercicio que tuvieron diferentes efectos sobre el pHi .

En las condiciones en las que el pHi descendió la cinética de recuperación de la PCr se hizo más bifásica, mejor ajustada ($p < 0.05$) a una función bi-exponencial. La KPCr mostró que la velocidad de resíntesis de la PCr fue más lenta debido a la acidosis intracelular, y que subestimó la estimación de la capacidad oxidativa muscular (V_{max}) en el músculo gastrocnemius de ocho participantes (19 a 27 años). La Vi-PCr fue estimada desde la KPCr mostrando cinéticas significativamente más lentas en el protocolo en que el pHi descendió.

La técnica ³¹P-RMN utilizada en el trabajo de Walter y col, permitió, adicionalmente, el cálculo directo de la ViPCr sobre los primeros 12 segundos de la recuperación; que demostró que las cinéticas no fueron significativamente diferentes; y por tanto la falta de influencia del pHi sobre ellas.

Los autores sugieren que cualquier modelo que use la KPCr para predecir la capacidad oxidativa puede producir una subestimación en la valoración.

Los avances tecnológicos en la localización de las muestras de estudio y captación de la señal junto a la capacidad de las unidades de ^{31}P -RMN para utilizar tiempos de resolución cada vez más pequeños, pueden ayudar a mejorar la precisión de los cálculos sobre la resíntesis de PCr tras el ejercicio^{55,349} y sobre todo en sus fases más iniciales.

Cinéticas más rápidas de ViPCr en los sujetos físicamente activos que las de los controles, como las observadas en el presente estudio, han sido demostradas también por Tartaglia y col²³³, en el único estudio de los revisados hasta el momento, en el que se intenta la correlación entre el niveles de estado físico de los sujetos (METS) con los parámetros metabólicos durante la recuperación.

Los autores han estudiado la recuperación de 27 sujetos (11 desacondicionados y 16 acondicionados, agrupados por los METs de actividad física) sobre músculos de la pantorrilla, tras realizar un ejercicio de flexión plantar en isquemia. La Vi-PCr resultó ser más rápida en los sujetos acondicionados (Acondicionados = 22.87 ± 8.12 y Desacondicionados = 14.47 ± 5.48) y fuertemente correlacionada con los METs realizados.

La aproximación utilizada por los autores para su cálculo, aunque equivalente, fue diferente a la utilizada en el presente trabajo; y explica las diferencias en los valores obtenidos. A pesar de que el pH_i descendió al final del ejercicio, los resultados cinéticos de la recuperación son explicados por los autores por la mayor capacidad oxidativa de los sujetos acondicionados.

Se incluye una tabla resumen de los valores metabólicos de la recuperación. (Tabla 9.25 y 9.26)

10.5.4. Actividad física y recuperación

En la selección de los sujetos físicamente activos de la muestra del presente estudio, se tomó como criterio de inclusión el tipo y la actividad física realizada. Se consideraron como activos aquellos sujetos que realizaban una actividad física de endurance que involucraba específicamente a las extremidades inferiores, de más de 6 horas por semana, se buscó el posible efecto de una actividad física regular de este tipo sobre el metabolismo energético

muscular. Las cinéticas de resíntesis de PCr en estos sujetos fueron más rápidas en ambas intensidades de ejercicio aun cuando el pH_i disminuyó, como ha sido ya comentado.

Cinéticas más rápidas de resíntesis de PCr son admitidas tras ejercicios submáximos en atletas entrenados en endurance^{176,350,351}; además tanto en los sujetos de esta muestra como en los atletas entrenados, debería ser evidente una más alta velocidad inicial de resíntesis de PCr cuando el ejercicio disminuyó el pH_i, dado que el efecto inhibitorio del pH_i parece centrado en los estadios tardíos de la recuperación¹⁷⁰. Por otro lado, aunque el VO_{2max} no fue valorado en nuestro trabajo y aún cuando la mayoría de los atletas entrenados poseen altos niveles de potencia aeróbica, esta mayor potencia aeróbica no es el único hecho asociado con el entrenamiento en endurance¹⁷⁰.

Distintos trabajos de ³¹P-RMN han estudiado las cinéticas de recuperación de PCr en individuos entrenados en endurance en los que se hace evidente la disminución del pH_i^{37,223}; y en muy pocos, además, se ha investigado la interrelación entre la potencia aeróbica y la resíntesis de PCr en ejercicios de alta intensidad^{49,347,349}.

La recuperación de la PCr tras el ejercicio fue estudiada por Yoshida y col, 1993²²³ en el bíceps flexor femoral de cinco corredores de larga distancia y seis controles, a una intensidad absoluta de 20 Kg/m/min .

La recuperación de PCr fue significativamente más rápida en los corredores de larga distancia que en los controles, es decir, en los individuos con más alto potencial oxidativo. Sin embargo, esta conclusión ha sido cuestionada¹⁷⁰ por el hecho de que la intensidad del ejercicio fue la misma en términos absolutos para todos los sujetos , lo que ocasionó una diferente depleción de PCr al final del ejercicio; y aunque no referido, un diferente pH_i en ambas poblaciones y por tanto una diferente inhibición sobre la recuperación de la PCr.

En un trabajo posterior Yoshida y col. 2002, ya comentado con anterioridad en relación a la respuesta al ejercicio, estudiaron la respuesta cinética de la PCr en seis individuos sedentarios, 5 corredores de larga distancia y 5 sprinters sobre el bíceps flexor femoral, a dos intensidades absolutas de ejercicio. Las cargas de trabajos seleccionadas se consideraron medias (1.63 W) e intensas (4.90 W) que correspondieron a un 18-23% y 54-70% de la máxima intensidad de ejercicio. El significativo menor decremento en PCr , la menor acidificación y cinéticas de recuperación significativamente más rápidas, en ambas intensidades de ejercicio en los corredores de larga distancia, y en ambas intensidades de

ejercicio, fueron atribuidas a la mayor capacidad oxidativa de los corredores de larga distancia, pero no resultado de las diferencias en la intensidad de trabajo.

Un comportamiento cinético muy similar al presentado en nuestro trabajo en los sujetos físicamente activos, a pesar de que el músculo estudiado fuera diferente y las intensidades del ejercicio fueran distintas.

Persiste la controversia en la literatura sobre si las cinéticas más rápidas de resíntesis de PCr son resultado de una mayor capacidad oxidativa, atribuida al entrenamiento en endurance, o estarían relacionadas más bien con el mayor VO_{2max} en los sujetos entrenados, al igual que se ha comentado durante el ejercicio.

Los estudios de ^{31}P -RMN parecen confirmar la interrelación entre VO_{2max} y τPCr a intensidades medias de ejercicio, pero en ejercicios de más alta intensidad los resultados no siempre confirman esta interrelación. En general los ejercicios intensos que envuelven grandes masas musculares presentan mejores interrelaciones entre VO_{2max} y τPCr que los ejercicios que utilizan pequeñas masas musculares³⁵¹.

Uno de los trabajos en que se investigó la interrelación entre VO_{2max} y la velocidad de resíntesis de PCr sobre ejercicio de pequeñas masas musculares fue el de Takahashi⁴⁹. Se estudió el músculo cuádriceps de cinco corredores entrenados en endurance y siete controles, en cuatro ejercicios de diferente intensidad y pH_i. El VO_{2max} y la τPCr se mostraron correlacionadas en las cuatro intensidades de ejercicio; la τPCr aumentó con la intensidad del ejercicio pero en menor porcentaje en los corredores; y la PCr y el pH_i al final del ejercicio resultaron también más altos en este grupo de sujetos.

Los autores interpretaron esta respuesta, como un posible reflejo de una capacidad incrementada de los corredores para restaurar el pH_i, una conocida capacidad de los individuos con un elevado VO_{2max} .^{170,347,349}, y no necesariamente sólo de una mayor capacidad oxidativa muscular.

La influencia de la máxima potencia aeróbica (MAP) sobre la recuperación de PCr y pH_i no fue demostrada por Cooke y col en dos estudios^{170,347,349} en el músculo gastrocnemius, tras un ejercicio de flexión plantar, al 120% de un protocolo máximo determinado previamente, durante 2 minutos. Un test de cicloergómetro determinó el VO_{2max} y permitió la distribución de los sujetos en un grupo de alta y otro de baja MAP. En ambos casos, la recuperación de

PCr no fue más rápida en aquellos individuos con un MAP elevado cuando el ejercicio fue de suficiente intensidad como para inducir un declive en el pH_i.

El VO_{2max} resultó ser un pobre predictor de la recuperación de PCr, bien por la gran variabilidad de este parámetro con ejercicios que originan una disminución significativa del pH_i^{170,228}, o bien, entre otras razones, al diferente estado metabólico muscular del final del ejercicio en los sujetos, a pesar de su alto VO_{2max}^{170,347}.

La respuesta de adaptación periférica muscular al desacondicionamiento/recondicionamiento físico ha sido valorada también durante la recuperación por técnica de ³¹P-RMN. Algunos de los trabajos han sido referidos en relación al ejercicio.

Stratton J y col.³²² investigaron la respuesta de la PCr en la recuperación tras el ejercicio incremental a MPT(10 sujetos) y constante 70-80% del la PMT (8 sujetos), hasta la extenuación, en los músculos flexores de la muñeca de 7 sujetos con insuficiencia cardíaca. Los pacientes efectuaron un entrenamiento diario/1 mes de la musculatura de su antebrazo no dominante; el brazo dominante se utilizó como control. Tras el entrenamiento la velocidad de resíntesis de la PCr incrementó en un 48% y 61% en el ejercicio incremental y constante, respectivamente, calculados sobre la pendiente de una regresión lineal ajustada a tiempo= 0 (final del ejercicio) y los dos primeros puntos a 27 y 83 segundos. La duración del ejercicio incrementó significativamente, el Pi/PCr menor y del pH_i mayor, atribuyendo este efecto los autores a una mejor capacidad oxidativa local.

Los autores atribuyeron el aumento de endurance³²², a las mejores condiciones metabólicas del sujeto al final del ejercicio. Minotti³²¹ no estudió la cinética de recuperación de la PCr, pero atribuyó el aumento de endurance a las condiciones metabólicas musculares.

13 pacientes de EPOC y 8 controles fueron los estudiados en el trabajo de Sala y col²⁷⁰. Los autores refieren también una mejor cinética de resíntesis de PCr tras el entrenamiento con una τPCr que disminuyó un 35%. Para su evaluación realizaron previamente un ejercicio de carga constante para mantener el Pi/PCr entre 1 ± 0.5 y así el pH_i por encima de 6.90 en el primer espectro de la recuperación.

El trabajo de Tartaglia y col²³³, tras realizar un ejercicio de flexión plantar en isquemia, propuso la evaluación del efecto del desacondicionamiento físico sobre el metabolismo oxidativo del músculo esquelético evaluado por ³¹P-RMN. Sus datos mostraron una

correlación significativa entre los METs y los índices de recuperación: τPi , τPCr , ViPCr , pHi final del ejercicio y depleción de PCr. Explicados la mayor capacidad oxidativa de los sujetos acondicionados.

Las diferencias potenciales entre músculos de antebrazo dominante y no dominante de sujetos sedentarios ha sido recientemente evaluada por Brosseau y col.²⁰, durante un ejercicio anaeróbico (tres series de ejercicio a 60%MCV de 1 minuto a 0.5Hz). El antebrazo no dominante alcanzó un pHi mínimo más bajo durante el ejercicio, y también durante la recuperación; la recuperación del Pi fue también más lenta pero no se observaron diferencias en la resíntesis post-ejercicio de la PCr. Los autores postularon que el uso más regular y preferencial del miembro dominante lleva a una condición de “training like” (similar al entrenamiento), apoyando los resultados sobre la asimetría metabólica de miembro dominante de Minotti²³⁰, March²³¹ comentados en relación al protocolo incremental.

Los resultados de nuestro trabajo durante la recuperación de los dos protocolos de ejercicio pueden apoyarse en estos trabajos, sugiriendo una mejor respuesta metabólica adaptativa local en los sujetos físicamente activos,

En el mismo sentido pueden interpretarse los resultados obtenidos en el ejercicio incremental y el constante, mostrando que al menos en este grupo de sujetos la actividad física diaria ha repercutido en las condiciones metabólicas musculares. Y la ^{31}P -RMN ha sido capaz de discernir estas diferencias.

Como refieren Tartaglia y col²³³, el nivel de actividad física debería ser tenido en cuenta cuando se interpretan los datos de ^{31}P -RMN en sujetos sanos y en pacientes con diversas enfermedades.

10.6. CONTROL DEL METABOLISMO OXIDATIVO

El análisis de los espectros permitió calcular las $[\text{ADP}]$ y $[\Delta \text{GATP}]$, necesitando par ello realizar ciertas asunciones (ver material y métodos).

La cinética del $[\Delta \text{GATP}]$ siguió en su evolución a la PCr a lo largo de los dos protocolos de ejercicio y durante la recuperación de los mismos. La evolución de la $[\text{ADP}]$ tuvo un curso

diferente. Al comienzo del ejercicio experimentó un aumento lineal con la intensidad del ejercicio; pero posteriormente la influencia de las variaciones del pHi modificaron su cinética.

Tanto la PCr, como el ADP y Δ GATP han sido objeto de estudio como implicados en el control de la fosforilación oxidativa. En circunstancias de pHi neutro el comportamiento de los tres elementos ha sido indistinguibles; pero su cinética se modifica en circunstancias en que el pHi varía.

La ^{31}P -RMN ha sido utilizada para investigar cómo responden cada uno de estos factores involucrados en el control oxidativo^{94,109,127,328}.

No ha sido objeto de este estudio el analizar estos posibles controladores, pero hemos recogido en gráficos el comportamiento cinético de los mismos durante los protocolos de ejercicio incremental y constante; y durante la recuperación de los ejercicios respectivos. Gráficos 9.32 – 9.35

CONCLUSIONES

11. CONCLUSIONES

De nuestro modo de operar y tras esta discusión elevamos a la categoría de conclusiones las siguientes:

1° La respuesta cinética al ejercicio de las variables metabólicas estudiadas PCr, Pi, y pHi ha resultado ser diferente en los sujetos físicamente activos de la muestra frente a los sujetos control .

2° Estudiados los parámetros metabólicos, la correlación pHi/W^2 y PCr/W^2 al final del ejercicio, independientemente del protocolo realizado, nos permite diferenciar a los sujetos físicamente activos de los control.

3° Entre los parámetros metabólicos el Pi/PCr en relación al trabajo máximo, también permite la diferenciación entre ambos grupos de sujetos.

4° Se deduce de nuestros resultados que la obtención del umbral de ejercicio incremental (IT) es imprescindible para realizar un ejercicio en condiciones metabólicas de estado-estable metabólico.

5° La actividad física diaria ha repercutido en las condiciones metabólicas musculares y la técnica de ^{31}P - RMN ha sido capaz de discernir estas diferencias.

6° Tras la realización del ejercicio incremental, la acidificación es mayor que después de completar el ejercicio constante. Pero en ambos protocolos los individuos físicamente activos mostraron valores de pH_i superiores, este hecho contribuye a cinéticas más lentas en la recuperación de los sujetos control.

7° La duración del ejercicio y por tanto el trabajo efectuado por los sujetos físicamente activos fue significativamente superior en el ejercicio constante, lo que interpretamos como una mayor resistencia al ejercicio por parte de estos sujetos. Sin embargo, estas diferentes duraciones no pueden ser explicadas por las modificaciones de los parámetros metabólicos estudiados; pudiendo estar más relacionada la aparición de fatiga, con mecanismos neuromusculares.

BIBLIOGRAFÍA

12. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Sapega AA, Sokolow DP, Graham TJ, Chance B. Phosphorus nuclear magnetic resonance: a non-invasive technique for the study of muscle bioenergetics during exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1987; 19(4):410-420.
- 2.- Burt CT, Glonek T, Barany M. ³¹P nuclear magnetic resonance detection of unexpected phosphodiesterases in muscle. *Biochemistry* 1976; 5:4850-52.
- 3.- Burt CT, Glonek T, Bárány M. Analysis of Phosphate Metabolites, the Intracellular pH, and the State of Adenosine Triphosphate in Intact Muscle by Phosphorus Nuclear Magnetic Resonance. *J Biol Chem* 1976; 251:2584-2591.
- 4.- Dawson MJ, Gadian DG, Wilke N. Contraction and recovery of living muscles studied by ³¹P nuclear magnetic resonance. *J Physiol (London)* 1977; 267:703-735.
- 5.- Dawson MJ, Gadian DG, Wilkie DR. Muscular fatigue investigated by phosphorus nuclear magnetic resonance. *Nature* 1978; 274:861-866.
- 6.- Hoult DI, Busby SJW, Gadian DG, Radda GK, Richards JH, Seeley PJ. Observation of tissue metabolites using ³¹P nuclear magnetic resonance. *Nature* 1974; 252:285-287.
- 7.- Yoshizaki K. Phosphorus Nuclear Magnetic Resonance Studies of Phosphorus Metabolites in Frog Muscle. *J Biochem* 1978; 84:11-18.
- 8.- Chance B, Eleff S, Leigh JS Jr. Noninvasive, nondestructive approaches to cell bioenergetics. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77:7430-7434.
- 9.- Cresshull I, Dawson MJ, Edwards R, Gadian DG, Gordon R, Radda GK, Shaw D. Human muscle analysed by ³¹P nuclear magnetic resonance in intact subjects. *J Physiol (London)* 1981; 317:18P.
- 10.- Ross BD, Radda GK, Gadian DG, Rother G, Esiri M, Falconer-Smith P, Falconer-Smith J. Examination of a case of suspected McArdle's syndrome by ³¹P magnetic resonance. *N Engl J Med* 1981; 304(22):1338-1342.
- 11.- Eleff S, Sokolow D, Sapega A, Torg J, Leigh J, Chance B. Non-invasive assessment of high energy phosphate metabolism in exercising muscle using NMR spectroscopy. *Med Sci Sports Exerc* 1981; 13:88-.
- 12.- Gadian DG. Magnetic resonance spectroscopy in disorders of O₂ delivery and utilisation. *Adv Exp Med Biol* 1997; 428:545-552.
- 13.- Blei ML, Conley KE, Kushmerick MJ. Separate measures of ATP utilization and recovery in human skeletal muscle. *J Physiol (London)* 1993; 465:203-222.
- 14.- Cardus J, Marrades RM, Roca J, Barbera JA, Diaz O, Masclans JR, Rodriguez-Roisin R. Effects of F(I)O₂ on leg VO₂ during cycle ergometry in sedentary subjects. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30(5):697-703.
- 15.- Walter G, Vandenborne K, Elliott M, Leigh JS. In vivo ATP synthesis rates in single human muscles during high intensity exercise. *J Physiol (London)* 1999; 593(3):901-910.
- 16.- Kemp GJ, Roussel M, Bendahan D, Le Fur Y, Cozzzone PJ. Interrelations of ATP synthesis and proton handling in ischaemically exercising human forearm muscle studied by ³¹P magnetic resonance spectroscopy. *J Physiol (London)* 2001; 535(pt 3):901-28.
- 17.- Cox IJ. Development and applications of in vivo clinical magnetic resonance spectroscopy. *Prog Biophys Mol Biol* 1996; 65(1-2):45-81.
- 18.- McCully K, Mancini DM, Levine S. Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Its Role in Providing Valuable Insight Diverse Clinical Problems. *Chest* 1999; 166: 1434-1441.

- 19.- Dobbins RL, Malloy CR . Measuring in-vivo metabolism using nuclear magnetic resonance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003; 6(5): 501-9.
- 20.- Giannesini B, Cozzzone PJ, Bendahan D . Non-invasive investigations of muscular fatigue: metabolic and electromyographic components. *Biochimie* 2003; 85:873-883.
- 21.- Shalin, Kent J, Söderlung K, Tonkonogi M, Hirakoba K . Phosphocreatine content in single fibers of human muscle after sustained submaximal exercise. *Am J Physiol* 1997; 273(42): C172-C178.
- 22.- Rico-Sanz J . Creatine reduces human muscle PCr and pH decrements and P(i) accumulation during low-intensity exercise. *J Appl Physiol* 2000; 88(4):1181-91.
- 23.- Casey A, Greenhaff PL . Does dietary creatine supplementation play a role in skeletal muscle metabolism and performance?. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(2 Suppl):607S-17S.
- 24.- Francaux M, Demeure R, Goudemant JF, Poortmans JR. Effect of exogenous creatine supplementation on muscle PCr metabolism. *Int J Sports Med* 2000; 21:139-145.
- 25.- Larson DE, Hesslink RL, Hrovat MI, Fishman RS, Systrom . Dietary effects on exercising muscle metabolism and performance by 31P-MRS. *J Appl Physiol* 1994; 77(3):1108-1115.
- 26.- Matheson GO, Allen PS, Ellinger DC, Hanstock Ch C, Gheorghiu D, McKenzie DC, Stanley C. Skeletal muscle metabolism and work capacity: a 31P-NMR study of Andean natives and lowlanders. *J Appl Physiol* 1991; 70(5):1963-1976.
- 27.- Walker PM, Brunotte F, Rouhier-Marcer I, Cottin Y, Casillas J-M, Gras P, Didier JP. Nuclear Magnetic Resonance Evidence of Different Muscular Adaptations After Resistance Training. *Arch Phys Med Rehabil* 1998; 79:1391-1398.
- 28.- Maurer J, Konstanczk P, Sollner O, Ehrenstein T, Knollmann F, Wolff R, Vogl TJ. muscle metabolism of professional athletes using 31P-spectroscopy. *Acta radiol* 1999; 40(1):73-7.
- 29.- Bernus G, DeSusoJMG, Alonso J, Martin PA, Prat JA, Arus C, . 31P-MRS of quadriceps reveals quantitative differences between sprinters and long distance runners. *Med Sci Sports Exerc* 1993; 25(4):479-484.
- 30.- Mattei JP, Bendahan D, Cozzzone PJ . P-31 Magnetic Resonance Spectroscopy. A tool for diagnostic purposes and pathophysiological insights in muscle diseases. *Reumatismo* 2004; 56(1):9-14.
- 31.- Bendahan D, Mattei JP, Kozak-Ribbens G, Cozzzone PJ. Non invasive investigation of muscle diseases using 31P magnetic resonance spectroscopy: potential in clinical applications. *Rev Neurol (Paris)* 2002; 158(5-1):527-40.
- 32.- Taylor AW, Phil D . Clinical utility of muscle MR spectroscopy. *seminars in musculoskeletal radiology* 2000; 4(4):481-502.
- 33.- ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription. 6th edition. Philadelphia. Lippincott, Williams & Wilkins. 2000 .
- 34.- Johansen L, Quistorff B. 31P-MRS characterization of sprint and endurance trained athletes. *Int J Sports Med* 2003; 24(3):183-9.
- 35.- Laurent D, Bernus G, Alonso J, Lebas JF, Arus C, Gonzalez de Suso JM, Rossi A. Effect of training on the calf muscle energy metabolism. A 31P-NMR study on four elite down hill skiers challenged with a standardized exercise protocol. *Int J Sports Med* 1992; 13(4): 313-8.
- 36.- Kent-Braun JA, McCully KK, Chance B . Metabolic effects of training in humans: a 31P-MRS study. *J Appl Physiol* 1990; 69(3):1165-1170.
- 37.- Yoshida T. The rate of phosphocreatine hydrolysis and resynthesis in exercising muscle in humans using 31P-MRS. *J Physiol Anthropol Appl Human Sci* 2002; 21(5):247-55.
- 38.- Kitahara A, Hamaoka T, Murase N, Homma T, Kurosawa Y, Ueda C, Nagasawa T.

Deterioration of muscle function after 21-day forearm immobilization. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35(10):1697-702.

- 39.- Zange J, Muller K, Schuber M, Wackerhage H, Hoffmann U, Günther RW., Adam G. Changes in Calf Muscle Performance, Energy Metabolism, and Muscle Volume Caused by Long Term Station Space Station MIR. *Int J Sports Med* 1997; 18(Suppl.4):S308-S309.
- 40.- Kent-Braun JA, Miller RG, Weiner MW . Magnetic resonance spectroscopy studies of human muscle. *Radiol Clin North Am* 1994; 32(2):313-335.
- 41.- Jubrias SA, Esselman PC, Price LB, Cress ME, Conley KE . Large energetic adaptations of elderly muscle to resistance and endurance training. *J Appl Physiol* 2001; 90(5):1663-70.
- 42.- Meyer RA, Foley JM . Cellular process integrating the metabolic response to exercise. In: Rowell LG, Shepherd JT. *Handbook of physiology. Section 12: Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems*. New York: Oxford University Press.p. 841-869. 1996; .
- 43.- Maughan R, Gleeson M, Greenhalf PL . *Biochemistry of Exercise and training*. Oxford University Press. 1997; .
- 44.- Jansson E, Dudley GA, Norman B, Tesch PA. Relationship of recovery from intense exercise to the oxidative potential of skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 1990; 139:147-152.
- 45.- Casey A, Consantin-Teodosiu D, Howell S, et al. Metabolic response of type I y II muscle fibres during repeated bouts of maximal exercise in humans. *Am J Physiol* 1996; 271(34):E38-E43.
- 46.- Tesch PA, Thorsson A, Fujitsuka N . Creatine phosphate in fibre types of skeletal muscle before and after exhaustive exercise. *J Appl Physiol* 1989; 66(4): 1756-1759.
- 47.- Bogdanis, Gregory C, Nevill ME, Boobis LH, Lakomy HKA . Contribution of phosphocreatine and aerobic metabolism to energy supply during repeated sprint exercise. *J Appl Physiol* 1996; 80(3):876-884.
- 48.- McCann DJ, Molé PA, Caton JR . Phosphocreatine kinetics in humans during exercise and recovery. *Med Sci Sports Exerc* 1995; 27(3):378-387.
- 49.- Takahashi H, Inaki M, Fujimoto K, Katsuta S, Izumi A, Mamoru N, Yuji I. Control of the rate of phosphocreatine resynthesis after exercise in trained and untrained human quadriceps muscles. *Eur J Appl Physiol* 1995; 71 (5): 396-404.
- 50.- Olmo J. Análisis de la fuerza muscular de los atletas españoles de alto nivel estudiada mediante técnicas isocinéticas. Tesis Doctoral. Ucm .Madrid. 1996.
- 51.- Brooks GA, Fahey TD, White PH, Baldwin KM. *Exercise Physiology. Human Bioenergetics and Its Applications*. 3rd ed. New York. McGraw-Hill. 2000.
- 52.- Lopez de Rego J. Estudio de los cambios morfológicos y funcionales de las fibras musculares estriadas esqueléticas en atletas de élite. Tesis Doctoral. UCM Madrid. 1998.
- 53.- Wegener G, Krause U . Environmental and exercise anaerobiosis in frogs. In: Hochaachka PW, Lutz PL, Sick T, et al., editors. *Surviving hypoxia: mechanisms of control and adaptation*. Boca Raton (FL):. CRC Press 1993; 217-236.
- 54.- McFarland EW, Kushmerick MJ, Moerland TS . Activity of creatine kinase in a contracting mammalian muscle of uniform fiber type. *Biophys J* 1994; 67: 1912-1924.
- 55.- Walter G, Vanderborne K, McCully KK, et al. Noninvasive measurement of phosphocreatine recovery kinetics in single human muscles. *Am J Physiol* 1997; 272(41):C525-C534.
- 56.- Metzger JM, Fitts RH . Role of intracellular pH in muscle fatigue. *J Appl Physiol* 1987; 62(4):1392-1397.
- 57.- Spriet LL, Lindinger MI, McKelvie RS, et al. Muscle glycogenolysis and H⁺ concentration during maximal intermittent cycling. *J Appl Physiol* 1989; 66(1):8-13.

- 58.- Steiner DF, Freinkel N . Handbook of Physiology I. American Physiological Society. Washington, DC. 1979; .
- 59.- Hultman E, Sjöholm H . Energy metabolism and contraction force of human skeletal muscle in situ during electrical stimulation. *J Physiol* 1983; 345:525-532.
- 60.- Jacobs I, Tesch PA, Bar-Or O, et al. Lactate in human skeletal muscle after 10s and 30s of supra maximal exercise. *J Appl Physiol* 1983; 55(2):365-367.
- 61.- Heerschap A, Houtman C, Zandt HJA, Van den Bergh AJ, Wieringa B . Introduction to in vivo ³¹P magnetic resonance spectroscopy of (human)skeletal muscle. *Proc Nutr Soc* 1999; 58(4):861-70.
- 62.- Murray TW, Granner DK, Mayes PA, Rodwell W. Harper's Biochemistry. Appleton & Lange. 1988; .
- 63.- Bangsbo J . Muscle oxygen uptake in humans at onset and during intense exercise. *Acta Physiol Scand* 2000;168:457-464.
- 64.- Jeneson JAL, Westerhoff HV, Kushmerick MJ . A metabolic control analysis of kinetic controls in ATP free energy metabolism in contracting skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 279: C813-C832.
- 65.- Kushmerick MJ, Conley KE . Energetics of muscle contraction: the whole is less than the sum of its parts. *Biochem Soc Trans* 2002; 30(2):227-231.
- 66.- Adams GR, Foley JM, Meyer RA . Muscle buffer capacity estimated from pH changes during rest-to-work transitions. *J Appl Physiol* 1990; 69(3):968-972.
- 67.- Meyer RA, Adams GR, Fisher MJ, Dillon PF, Krisanda JM, Brown TR, Kushmerick MJ. Effect of decreased pH on force and phosphocreatine in mammalian skeletal muscle. *Can J Physiol Pharmacol* 1991; 69:305-310.
- 68.- Goodyear LJ, Kahn BB . Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. *Annu Rev Med* 1998; 49:235-261.
- 69.- Connett RJ . Analysis of metabolic control: new insights using scaled creatine kinase model. *Am J Physiol* 1988;254(R.I.C. Physiol. 23):R949-R959.
- 70.- Meyer RA . A linear model of muscle respiration explains mono-exponential phosphocreatine changes. *Am J Physiol* 1988; 254(Cell Physiol. 23):C548-C553.
- 71.- Paganelli W, Pendergast D, Koness J, Cerretelli P. The effect of decreased muscle energy stores on the VO₂ kinetics at the onset of exercise. *Eur J Appl Physiol* 1989; 59:321-326.
- 72.- Gottschalk ME, Kemp RG . Interaction of dinucleotides with muscle phosphofructokinase. *Biochemistry* 1981;20:2245-2251.
- 73.- Connett RJ, Sahlin B . Control of glycolysis and glycogen metabolism.In: Rowell LG, Shepherd JT. Hanbook of physiology. Section 12: Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems. New York: Oxford University Press.p.870-911. 1996; .
- 74.- Chance B, Leigh JS, Clark BJ, Maris J, Kent J, Noika S, Smith D. Control of oxidative metabolism and oxygen delivery inhuman skeletal muscle: A steady-state analysis of the work/energy cost transfer function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:8384-8388.
- 75.- Chance B, Leigh J, Kent J, Mc Cully K, Nioka S, Clark BJ, Maris Jm. Multiple controls of oxidative metabolism of living tissues as studied by ³¹P MRS. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 9458-62.
- 76.- Tscharovsky ME, Hughson RL . Interaction of factors determining oxygen uptake at the onset of exercise. *J Appl Physiol* 1999; 86(4): 1101-1113.
- 77.- Kemp GJ . Studying metabolic regulation in human muscle. *Biochem Soc Trans* 2000; 28(2):100-103.

- 78.- Whipp BJ, Rossiter HB, Ward SA . Exertional oxygen uptake kinetics: a stamen of stamina?. *Biochem Soc Trans* 2002; 30(2):237-247.
- 79.- Brown GC . Control of respiration and ATP synthesis in mammalian mitochondria and cells. *Biochem J* 1992;284:1-13.
- 80.- Jeneson JAL, Wiseman RW, Westerhoff HV, Kushmerick MJ. The signal transduction function for oxidative phosphorylation is at least second order in ADP. *J Biol Chem* 1996; 271:27995-27998.
- 81.- Conley KE, Blei ML, Richards TL, Kushmerick MJ, Jubrias SA . Activation of glycolysis in human muscle in vivo. *Am J Physiol* 1997; 273:C306-C315.
- 82.- Greenhaff PL, Campbell-O'Sullivan SP, Consantin-Teodosiu D, Poucher SM, Roberts PA, Timmons JA, . An acetyl group deficit limits mitochondrial ATP production at the onset of exercise. *Biochem Soc Trans* 2002; 30(2):275-280.
- 83.- Harkema SJ, Meyer RA . Effect of acidosis on control of respiration in skeletal muscle. *Am J Physiol* 1997;272(41):C491-C500.
- 84.- Nioka S, Argov Z, Dobson GP, Forster RE, Subramanian HV, Veech RL, Chance B. Substrate regulation of mitochondrial oxidative phosphorylation in hypercapnic rabbit muscle. *J Appl Physiol* 1992; 72(2):521-528.
- 85.- Jeneson JAL, Westerhoff HV, Brown TR, Van Echteld CJA, Berger R . Quasi-linear relationship between Gibbs free energy of ATP hydrolysis and power-output in human forearm muscle. *Am J Physiol* 1995; 268(37):C1474-C1484.
- 86.- Kemp GJ, Radda GK . Quantitative interpretation of bioenergetic data from ³¹P and ¹H magnetic resonance spectroscopic studies of skeletal muscle: an analytical review. *Magn Reson Q* 1994; 10 (1):43-63.
- 87.- Kushmerick MJ, Meyer RA, Brown RL . Regulation of oxygen consumption in fast- and slow twitch muscle. *Am J Physiol* 1992; 263(Cell Physiol. 32):C598-C606.
- 88.- Miller RG, Boska MD, Moussavi RS, Carson PJ, Weiner MW . ³¹P nuclear magnetic resonance studies of high energy phosphates and pH in human muscle fatigue: comparison of aerobic and anaerobic exercise. *J Clin Invest* 1988;81:1190-1196.
- 89.- Thompson CH, Kemp GJ, Sanderson AL, Radda GK. Skeletal muscle mitochondrial function studied by kinetic analysis of postexercise phosphocreatine resynthesis. *J Appl Physiol* 1995; 78(6):2131-2139.
- 90.- Chance B, Leig JS, Kent J, McCully K. Metabolic control principles and ³¹P NMR. *Federation Proc* 1986; 45:2915-2920.
- 91.- Idström JP, Harihara V, Chance B, Scherstén T, Bylund-Fellenius AC . Energy metabolism in relation to oxygen supply in contracting rat skeletal muscle. *Federation Proc* 1986; 45:2937-2941.
- 92.- Meyer RA . Linear dependence of muscle phosphocreatine kinetics of total creatine content. *Am J Physiol* 1989; 257(Cell Physiol. 26):C1149-C1157.
- 93.- Wilson DF . Factors affecting the rate and energetics of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Med Sci Sports Exerc* 1994; 26:37-43.
- 94.- Barstow T J, Buchthal SD, Zanconato S, Cooper B al. Changes in potential controllers of human skeletal muscle respiration during incremental calf exercise. *J Appl Physiol* 1994; 77(5):2169-2176.
- 95.- Meyer RA, Foley JM . Testing models of respiratory control in skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc* 1994; 26:52-57.
- 96.- Wilson DF, Rumsey WL . Factors modulating the oxygen dependence of mitochondrial oxidative

phosphorylation. *Adv Exp Med Biol* 1988; 222:121-31.

- 97.- From AHL, Zimmer SK, Michurski SP, et al. Regulation of the oxidative phosphorylation rate in the intact cell. *Biochemistry* 1990; 29:3731-3743.
- 98.- Hansford RG . Role of calcium in respiratory control. *Med Sci Sports Exerc* 1994; 26:44-51.
- 99.- Rajagopalan B, Conway MA, Massie B, Radda GK. Alterations of Skeletal Muscle Metabolism in Humans Studied by Phosphorus 31 Magnetic Resonance Spectroscopy in Congestive Heart Failure. *Am J Cardiol* 1988; 62:53E-57E.
- 100.- Timmons J,A, Poucher SM, Consantin-Teodosiu D, Worral V, Macdonald IA, Greenhaff PL, . Substrate availability limits human skeletal muscle oxidative ATP regeneration at the onset of ischemic exercise. *J Clin Invest* 1996; 97:879-883.
- 101.- Achten E, Van Cauteren M, Willem R, Luypaert R, Malaisse WJ al, Van Bosch G, Delanghe G. 31P-NMR spectroscopy and the metabolic properties of different muscle fibers. *J Appl Physiol* 1990; 68(2):644-649.
- 102.- Minotti JR, Jhonson EC, et al . Training-induced skeletal muscle adaptations are independent of systemics adaptations. *J Appl Physiol* 1990; 68(1):289-294.
- 103.- Moreno-Sanchez R, Hogue BA, Hansford RG . Influence of NAD-linked dehydrogenase activity on flux through oxidative phosphorylation. *Biochem J* 1990; 268:421-428.
- 104.- Katz A, Sahlin K . Regulation of lactic acid production during exercise. *J Appl Physiol* 1988; 65:509-518.
- 105.- Katz A, Sahlin K . Role of oxygen in regulation of glycolysis and lactate production in human skeletal muscle. *Exerc Sports Sci Rev* 1990; 18:1-28.
- 106.- Mahler M . First-order kinetics of muscle oxygen consumption, and an equivalent proportionality between $\dot{V}O_2$ and phosphoryl creatine level. *J Gen Physiol* 1985; 86:135-165.
- 107.- Barstow T J, Lamarra N, Whipp B . Modulation of muscle and pulmonary O_2 uptakes by circulatory dynamics during exercise. *J Appl Physiol* 1990; 68(3):979- 989.
- 108.- Molé PA, Coulson RL, Caton JR, Nichols BG, Barstow TJ . In vivo 31P-NMR in human muscle: transient patterns with exercise. *J Appl Physiol* 1985; 59(1):101-104.
- 109.- Barstow T J, Buchthal S, Zanconato S, Cooper B al. Muscle energetics and pulmonary oxygen uptake kinetics during moderate exercise. *J Appl Physiol* 1994; 77(4):1742-1749.
- 110.- Rossiter HB, Ward SA, Doyle VL, Howe FA, Griffiths JR, Whipp B, . Inferences from pulmonary O_2 uptake with respect to intramuscular [phosphocreatine] kinetics during moderate exercise in humans. *J Physiol (London)* 1999; 518(3): 921-932.
- 111.- Argov Z, Bank WJ, Maris J, Eleff S, Kennaway NG, Olson RE, Chance B. Treatment of mitochondrial myopathy due to complex III deficiency with vitamins K3 and C: a 31p-MRS follow-up study. *Ann Neurol* 1986; 19:598-602.
- 112.- Puente-Maestu L, Sanz ML, Sanz P, Nuñez A, Gonzalez F, Whipp BJ, . Reproducibility of the parameters of theon-transient cardiopulmonary responses during moderate exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease.*Eur J Appl Physiol* 2001; 85:434-441.
- 113.- Özyner F, Rossiter HB, Ward SA, Whipp B. Influence of exercise intensity on the on- and off-transient kinetics of pulmonary oxygen uptake in humans. *J Physiol (London)* 2001; 533(3): 891-902.
- 114.- Paterson DH, Whipp BJ . Asymetries of oxygen uptake transients at the on-and offset of heavy exercise in human. *J Physiol (London)* 1991; 443:575-586.
- 115.- Barstow T J, Molé PA . Linear and nonlinear characteristics of oxygen uptake kinetics during heavy exercise. *J Appl Physiol* 1991; 71:2099-2106.

- 116.- Doyle VL, Rossiter HB, Howe FA, Ward SA, Whipp BJ, Griffiths JR, . . Proc Int Soc Magn Reson Med 1999; 4:A1527.
- 117.- Janicki JS, Sheriff DD, Robotham JL, Wise RA. Cardiac output during exercise: contributions of the cardiac, circulatory, and respiratory systems. In: Rowell LG, Shepherd JT. Handbook of physiology, Section 12: Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems. New York: Oxford University Press. p. 1996; .
- 118.- Laughlin MH, Korthuis RJ, Duncker DJ, Bache RJ. Control of blood flow to cardiac and skeletal muscle during exercise. In: Rowell LG, Shepherd JT. Handbook of physiology. Section 12: Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems. New York: Oxford University Press. p. 705-769. 1996; .
- 119.- Delp MD, Laughlin MH . Regulation of skeletal muscle perfusion during exercise. Acta Physiol Scand 1998; 162:411-419.
- 120.- Saltin B, Radegran G, Koskolou MD, Roach RC. Skeletal muscle blood flow in humans and its regulation during exercise. Acta Physiol Scand 1998; 162: 421-436.
- 121.- Gill RW . Measurement of blood flow by ultrasound: Accuracy and sources of error. Ultrasound Med Biol 1985;11:625-641.
- 122.- Andersen P, Saltin B . Maximal perfusion of skeletal muscle in man. J Physiol (London) 1985; 366:233-249.
- 123.- Blomstrand E, Radegran G, Saltin B . Maximum rate of oxygen uptake by human skeletal muscle in relation to maximal activities of enzymes in the Krebs cycle. J Physiol 1997; 501:455-460.
- 124.- Richardson RS, Poole DC, Knight DR, Kurdak S, Hogan MC, Grassi B, et al. High muscle blood flow in man: Is maximal O₂ extraction compromised?. J Appl Physiol 1993; 75:1911-1916.
- 125.- Grassi B . Muscle O₂ uptake kinetics in humans: implications for metabolic control. J Appl Physiol 1996;80(3):988-998.
- 126.- Barstow TJ, Casaburi R, Wasserman K . O₂ uptake kinetics and the O₂ deficit as related to exercise intensity and blood lactate. J Appl Physiol 1993; 75(2):755-762.
- 127.- Binzoni T, Ferretti G, Schenker K, Cerretelli P. Phosphocreatine hydrolysis by ³¹P- NMR at the onset of constant-load exercise in humans. J Appl Physiol 1992; 73(4):1644-1649.
- 128.- Marsh GD, Paterson DH, Potwarka JJ, Thompson CH. Transient changes in muscle high-energy phosphates during moderate exercise. J Appl Physiol 1993; 75(2):648-656.
- 129.- Haseler LJ, Richardson RS, Videen JS, Hogan C. Phosphocreatine hydrolysis during submaximal exercise: the effect of FIO₂. J Appl Physiol 1998; 85(4): 1457-1463.
- 130.- Bloch F, Hansen WW, Packard M . Nuclear induction (letter to the editor). Phys Rev 1946; 69:127.
- 131.- Purcell EM, Torrey HC, Pound RV . Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. Phys Rev 1946; 69:37.
- 132.- Gutierrez G, Andry JM . Nuclear magnetic resonance measurements-Clinical applications. Crit Care Med 1989;17(1):73-82.
- 133.- Brady TJ, Koutcher JA . Nuclear Magnetic Resonance(NMR) in Clinical Diagnosis. Adv Intern Med 1986;31:419-447.
- 134.- García Segura JM . Espectroscopía in vivo por resonancia magnética nuclear. Madrid: Eudema S.A. 1991; .
- 135.- Slichter S . Principles of Magnetic Resonance. New York, Springer-Verlag. 1980; .
- 136.- Meyer RA, Kushmerick MJ, Brown TR . Application of ³¹P-NMR spectroscopy to the study of

striated muscle metabolism. *Am J Physiol* 1982; 242(Cell Physiol. 11):C1-C11.

- 137.- Iotti S, Tarduci R, Gottardi G, Barbiroli B. Cytosolic free Mg^{2+} in the human calf muscle in different metabolic conditions: in vivo ^{31}P MRS and computer simulation. *Proc Int Soc Magn Reson Med* 1999; 7:1540.
- 138.- Park JH, Niermann K, Das A, Carr B, Olsen N . Abnormalities in magnesium (Mg^{2+}) and ATP levels in muscle disorders: dermatomyositis and fibromyalgia. *Proc Int Soc Magn Reson Med* 1999; 7:1536.
- 139.- Gadian DG . NMR and its Application to Living Systems. 2nd ed. Oxford: Oxford Science Publications. 1995; .
- 140.- Hutson S, Williams G, Berkich D, LaNoue K, Briggs RW . A ^{31}P NMR study of mitochondrial inorganic phosphate visibility: effects of Ca^{2+} , Mn^{2+} and the pH gradient. *Biochemistry* 1992; 31:1322-1330.
- 141.- Iotti S, Lodi R, Gottardi G, Zaniol P, Barbiroli B . Inorganic phosphate is transported into mitochondria in the absence of ATP biosynthesis: an in vivo study in the human skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 225:191-194.
- 142.- Wilkie DR, Dawson J, Edwards RHT, Gordon RE, Shaw D . ^{31}P NMR studies of resting muscle in normal humansubjects. *Adv Exp Med Biol* 1984; 170:333-346.
- 143.- Ainsworth BE, Haskell WLI, Leon AS . Compendium of physical activities:classification of energy costs of humanphysical activities. *Med Sci Sports Exerc* 1993; 25:71-80.
- 144.- Kaminsky P, Robin-Lherbier B, Walker P, Brunotte F, Escanye JM al, Klein M, Forret J. Muscle bioenergetic impairment in hyperthyroid man: a study by ^{31}P NMR spectroscopy. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1991; 124(3):271-277.
- 145.- Kaminsky P, Robin-Lherbier B, Brunotte F, et al. Energetic metabolism in hypothyroid skeletal muscle, as studied by phosphorus MRS. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74(1):124-9.
- 146.- Quistorff B, Nielsen S, Thomsen C, Jensen KE, Henriksen O . A simple calf muscle ergometer for use in a standard whole-body MR scanner. *Magn Reson Med* 1990; 13:444-449.
- 147.- Styles P, Scott PA, Radda GK . A method for localizing high resolution NMR spectra from human subjects. *Magn Reson Med* 1985; 2:402-409.
- 148.- Tannus A, Garwood M . Adiabatic pulses. *NMR in Biomedicine* 1997; 10:423-434.
- 149.- Bottomley PA, Foster TB, Darrow RD . Depht-resolved surface-coil spectroscopy (DRESS) for in vivo H-1, P-31, and C-13 NMR. *J Magn Reson* 1984; 59:338-342.
- 150.- Brown T . Practical aplications of chemical shift imaging. *NMR in Biomedicine* 1992; 5:238-243.
- 151.- Ordidge J, Connelly A, Lohman J . Image selected in vivo spectroscopy (ISIS). A new technique for spatially selective NMR spectroscopy. *J Magn Reson* 1986; 66:283-294.
- 152.- Gillies RJ, Raghunand N . Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy in the Study of Whole-animal Metabolism. *R encyclopedia of life sciences* 2001; 1-6.
- 153.- Brindle KM . NMR methods for measuring enzyme kinetics in vivo. *Prog NMR Spectr* 1988; 20:257-293.
- 154.- Rudin M, Sauter A . Measurement of reaction rates in vivo using magnetisation transfer techniques. *NMR: Basic Principles and Progress* 1992; 27:257-293.
- 155.- Horska A, Fishbein K, Fleg JL, Spencer R. The relationship between creatine kinase reaction kinetics and exercise intensity in human forearm is unchanged by age. *Proc Int Soc Magn Reson Med* 1999; 7:1537.
- 156.- Argov Z, Lofberg M, Arnold DL . Insights into muscle diseases gained by phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *Muscle Nerve* 2000; 23(9):1316-34.

- 157.- Wilson JR, McCully KK, Mancini DM, Boden B, Chance B . Relationship of muscular fatigue to pH and diprotonated Pi in humans: a 31P-NMR study. *J Appl Physiol* 1988; 64(6):2333-2339.
- 158.- Thompson CH, Kemp GJ, Barnes PR, Rajagopalan B, Styles P, Taylor DJ, Radda GK. Uraemic muscle metabolism at rest and during exercise. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9:1600-1605.
- 159.- Zochodne DW, Thompson RT, Driedger AA, Strong MJ, Gravelle D, Bolton CF, . Metabolic changes in human muscle denervation: topical 31P NMR spectroscopy studies. *Magn Reson Med* 1988; 7:373-383.
- 160.- Kent-Braun JA, Miller RG, Weiner MW . Human Skeletal Muscle Metabolism in Health and Disease: Utility of Magnetic Resonance Spectroscopy. *Exerc Sports Sci Rev* 1995; 305-343.
- 161.- Taylor DJ, Fleckenstein JL, Lodi R . Imaging and spectroscopy of muscle. In: Karpati G, Hilton-Jones D, Griggs R, eds. *Disorders of Voluntary Muscle*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 2001; .
- 162.- Chance B, Eleff S, Leigh JS Jr, Sokolow D, Sapega A . Mitochondrial regulation of phosphocreatine/inorganic phosphate ratios in exercising human muscle : a gated 31P NMR study. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78:6714-6718.
- 163.- McCreary C R, Chilibeck PD, Marsh GD, Paterson DH, Cunningham DA, Thompson RT, . Kinetics of pulmonary oxygen uptake and muscle phosphates during moderate-intensity calf exercise. *J Appl Physiol* 1996; 81(3):1331-1338.
- 164.- Francescato MP, Cettolo V, Di Prampero PE . Relationships between mechanical power, O₂ consumption, O₂ deficit and high-energy phosphates during calf exercise in humans. *Pflugers Arch* 2003; 445: 622-628.
- 165.- Giannesini B, Izquierdo M, Cozzone PJ, Bendahan D. Metabolic underpinnings of the paradoxical net phosphocreatine resynthesis in contracting rat gastrocnemius muscle. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1553:223-231.
- 166.- Schocke MFH, Esterhammer R, Kammerlander Ch, Rass A, Kremser Ch, Fraedrich G, Jaschke WR. High-energy phosphate metabolism during incremental calf exercise in humans measured by 31 phosphorus magnetic resonance spectroscopy (31P MRS). *Magn Reson Imaging* 2004; 22: 109-115.
- 167.- Kent-Braun JA, Miller RG, Weiner MW . Phases of metabolism during progressive exercise to fatigue in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1993; 75(2): 573-580.
- 168.- Park JH, Brown RL, McCully K, Cohn M, Haselgrove J, Chance B, . Functional pools of oxidative and glycolytic fibers in human muscle observed by 31P magnetic resonance spectroscopy during exercise. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:8976-8980.
- 169.- Gang Z, Gheorghiu D, Arnold DL, Allen PS. The discrimination of different muscle-group-work rates in the calf during plantar flexion (abstract). *Proc Soc Magn Reson Med* 1993; 3:1139.
- 170.- McMahon S, Jenkins D . Factors affecting the rate of phosphocreatine resynthesis following intense exercise. *Sports Med* 2002; 32(12):761-84.
- 171.- Kemp GJ, Taylor AW, Radda GK . Control of Phosphocreatine Resynthesis during Recovery from Exercise in Human Skeletal Muscle. *NMR Biomed* 1993; 6:66-72.
- 172.- Paganini AT, Foley JM, Meyer RA . Linear dependence of muscle phosphocreatine kinetics on oxidative capacity. *Am J Physiol* 1997; 272(41):C501-C510.
- 173.- Whipp BJ, Rossiter HB, Ward SA, Avery D, Doyle VL, Howe FA, Griffiths JR. Simultaneous determination of muscle 31P and O₂ uptake kinetics during whole body NMR spectroscopy. *J Appl Physiol* 1999; 86(2):742-747.
- 174.- Thompson CH, Kemp GJ, Rajagopalan B, Radda GK. Abnormal ATP turnover in rat leg muscle during exercise and recovery following myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 1995; 29:344-349.

- 175.- Taylor DJ, Kemp GJ, Radda GK . Bioenergetics of skeletal muscle in mitochondrial myopathy. *J Neurol Sci* 1994;127:198-206.
- 176.- McCully KK, Boden BP, Tuchler M, Fountain M, Chance B . The wrist flexor muscles of elite rowers measured with magnetic resonance spectroscopy. *J Appl Physiol* 1989; 67(3):926-932.
- 177.- McCully K, Natelson BJ, Iotti S, Sisto S, Leigh J . Reduced oxidative muscle metabolism in chronic fatigue syndrome. *Muscle Nerve* 1996; 19:621-625.
- 178.- Argov Z, De Stefano N, Arnold DA . ADP Recovery After a Brief Ischemic Exercise in Normal and Diseased Human Muscle-a 31P MRS Study. *NMR Biomed* 1996; 9:165-172.
- 179.- Iotti S, Lodi R, Frassinetti C, Zaniol P, Barbiroli B . In vivo Assessment of Mitochondrial Functionality in Human Gastrocnemius Muscle by 31P MRS. The role of pH in the Evaluation of Phosphocreatine and Inorganic Phosphate Recoveries from Exercise. *NMR Biomed* 1993; 6:248-253.
- 180.- Kemp GJ, Thompson CH, Barnes PRJ, Radda GK. Comparisons of ATP Turnover in Human Muscle During Ischemic and Aerobic Exercise Using 31P Magnetic Resonance Spectroscopy. *Magn Reson Med* 1994; 31:248-258.
- 181.- Boska MD, Nelson JA, Sripathi N, Pipinos II, Shephard AD, Welch KM, . 31P MRS studies of exercising human muscle at high temporal resolution. *Magn Reson Med* 1999; 41:1145-1151.
- 182.- Wackerhage H, Hoffmann U, Essfeld D, Leyk D, Mueller K, Zange J, . Recovery of free ADP, Pi, and free energy of ATP hydrolysis in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1998; 85(6):2140-5.
- 183.- Iotti S, Funicello R, Zaniol P, Barbiroli B. Kinetics of post-exercise phosphate transport in human skeletal muscle: an in vivo 31P-MR spectroscopy study. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 176(3):1204-1209.
- 184.- Bendahan D, Confort-Gouny S, Kozak-Reiss G, Cozzzone PJ. Pi trapping glycogenolytic pathway can explain transient Pi disappearance during recovery from muscular exercise. *FEBS lett* 1990; 269(2):402-405.
- 185.- Kemp GJ, Thompson CH, Taylor DJ, Radda GK. Proton efflux in human skeletal muscle during recovery from exercise. *Eur J Appl Physiol* 1997; 76:462-471.
- 186.- Ryschon TW, Fowler MD, Wysong RE, Anthony A, Balaban RS . Efficiency of human skeletal muscle in vivo: comparison of isometric, concentric, and eccentric muscle action. *J Appl Physiol* 1997; 83(3):867-874.
- 187.- Combs CA, Aletras AH, Balaban RS . Effect of muscle action and metabolic strain on oxidative metabolic responses in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1999; 87(5):1768-75.
- 188.- Mainwood GW, Renaud JM . The effect of acid-base balance of fatigue on skeletal muscle. *Can J Physiol Pharmacol* 1993; 63:403-416.
- 189.- Blei ML, Conley KE, Odderson IBR, Esselan P. Individual variation in contractile cost and recovery in a human skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:7396-7400.
- 190.- Booth W, Baldwin KM . Muscle plasticity: energy demand and supply processes. *Handbook of physiology. Section12: Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems*. New York: Oxford University Press. p. 1075-1123. 1996; .
- 191.- Jeneson JA, Wiseman RW, Kushmerick MJ . Non-invasive quantitative 31P MRS assay of mitochondrial function in skeletal muscle in situ. *Mol Cell Biochem* 1997; 174:17-22.
- 192.- Ratkevicius A, Mizuno M, Povilonis E, Quistorff B. Energy metabolism of the gastrocnemius and soleus muscles during isometric voluntary and electrically induced contractions in man. *J Physiol (London)* 1998; 507(Pt 2): 593-602.
- 193.- Taborsky P, Sotornik I, Kaslikova J, Shuck O, Hajek M, Horska A, . 31P MRS investigation of skeletal muscle metabolism in uraemic patients. *Nephron* 1993; 65:222-226.

- 194.- Bernús G, Alonso J, Gonzalez de Suso JM, Prat J, Arus C . Phosphorus-31 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of the Quadriceps Muscle of Elite Athletes. *Biological Sciences IV* 1991; 164-165.
- 195.- Boicelli CA, Baldassarri AM, Borsetto C, Conconi F. An Approach to Non invasive Fiber Type Determination by NMR. *Int J Sports Med* 1989; 10(1):53-54.
- 196.- Chance B . Noninvasive Approaches to Oxygen Delivery and Cell Bioenergetics in Functioning Muscle. *Clin J Sport Med* 1992; 2(2):132-138.
- 197.- Kushmerick MJ, Moerland T, Wiseman RW . Mammalian skeletal muscle fibers distinguished by contents of phosphocreatine, ATP, and Pi. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:7521-7525.
- 198.- Taylor DJ, Crowe M, Bore PJ, Styles P, Arnold DL, Radda GK, . Examination of the energetics of aging skeletal muscle using nuclear magnetic resonance. *Gerontology* 1984; 30:2-7.
- 199.- Vandenborne K, McCully K, Chance B . Metabolic heterogeneity in human calf muscle during maximal exercise. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:5714-5718.
- 200.- Johnson R, Arnold D, Leger G . Splitting of the phosphate peak in exercising muscle is due to macroscopic not microscopic heterogeneity. *Proc Soc Magn Reson Med* 1990; 2:866.
- 201.- Yoshida T, Watari H, Tagawa K . Effects of active and pasive recoveries on splitting of the inorganic phosphate peak determined by 31P-NMR spectroscopy. *NMR Biomed* 1996; 9:13-19.
- 202.- Mizuno M, Justesen LO, Bedolla J, Friedman DB, Secher NH al, Quistorff B, . Partial curarization abolishes splitting of the inorganic phosphate peak in 31P-NMR spectroscopy during intense forearm exercise in man. *Acta Physiol Scand* 1990;139:611-612.
- 203.- Lam EWN, Hannam AG . Regional 31P MRS of exercising human masseter muscle. *Arch Oral Biol* 1992;37:49-56.
- 204.- Mizuno M, Secher H, Quistorff B . P-NMR spectroscopy, vs EMG, and histochemical fiber types of human wrist flexormuscles. *J Appl Physiol* 1994; 76(2):531-538.
- 205.- Shunk K, Losch OKreitner KF, Kersjes W, Schadmand-Fischer S, Thelen M . Contributions of DinamicPhosphorus-31 Magnetic Resonance Spectroscopyto Analysis of Muscle Fiber Distribution. *Invest Radiol* 1999;34(5):348-356.
- 206.- Meyer RA, Brown TR, Kushmerick MJ . Phosphorus nuclear magnetic resonance of fast- and slow-twitch muscle.*Am J Physiol* 1985; 248(Cell Physiol.17):C279-C287.
- 207.- Kuno S . Heterogeneity of Muscle Energetics in Human Muscle Fiber Type Using 31P Nuclear Magnetic Resonance. *Clin J Sport Med* 1991; 1(4):247-50.
- 208.- Takahashi H, Kuno SY, Katsuta S, Shimajo H, et al . Relationship between fiber composition and NMR measurements in human skeletal muscle. *NMR Biomed* 1996; 9:8-12.
- 209.- Boska MD . ATP Production Rates as a Function of Force Level in the Human Gastronemius/Soleus Using 31P MRS. *Magn Reson Med* 1994; 32:1-10.
- 210.- Kemp GJ, Campbell CB, Thompson CH, Taylor AW, Radda GK . ATP Production and Mechanical Work in Exercising Skeletal Muscle: A Theoretical Analisis Applied to 31P Magnetic Resonance Spectroscopic Studies of Diayzed Uremic Patients. *Magn Reson Med* 1995; 33:601-609.
- 211.- Bendahan D, Badier M, Jammes Y, et al. Metabolic and myoelectrical effects of acute hypoxaemia during isometric contraction of forearm muscles in humans: a combined 31P MRS surface electromyogram (MRS-SEMG) study. *Clin Sci (Colch)* 1998; 94:279-286.
- 212.- Bendahan D, Jammes Y, Salvan AM, Badier M, Confort-Gouny S, Guillot C, Cozzzone PJ. Combined electromyography-31P - Magnetic resonance spectroscopy study of human muscle fatigue during static contraction. *Muscle Nerve* 1996;19:715-721.
- 213.- Fowler MD, Ryschon TW, Wysong RE, Combs CA, Balaban RS . Normalized metabolic stress

for ³¹P-MR spectroscopy studies of human skeletal muscle: MVC vs. muscle volume. *J Appl Physiol* 1997; 83(3):875-883.

- 214.- Richardson RS, Haseler LJ, Nygren A, Blumi S, Frank LR . . *J Appl Physiol* 2001; 91:845-853.
- 215.- Bendahan D, Confort-Gouny S, Kozak-Reiss G, Cozzone PJ. Heterogeneity of metabolic response to muscular exercise in humans. New criteria of invariance defined by in vivo phosphorus-31 NMR spectroscopy. *FEBS lett* 1990;272(1-2):155-158.
- 216.- Chilibeck PD, McCreary C R, Marsh GD, Paterson DH, Noble EG, Taylor DJ, Thompson RT. Evaluation of muscle oxidative potential by ³¹P- MRS during incremental exercise in old and young humans. *Eur J Appl Physiol* 1998; 78:460-465.
- 217.- Thompson RT, Muirhead N, Marsh GD, Gravelle D, Potwarka JJ, Driedger AA, . Effect of anaemia correction on skeletal muscle metabolism in patients with end-stage renal disease: ³¹P magnetic resonance spectroscopy assessment. *Nephron* 1996; 73:436-441.
- 218.- Lodi R, Kemp GJ, Muntoni F, Thompson CH, Rae C, Taylor J, et al. Reduced cytosolic acidification during exercise suggests defective glycolytic activity in skeletal muscle of patients with Becker muscular dystrophy. An in vivo ³¹P MRS study. *Brain* 1999; 122:121-130.
- 219.- Lodi R, Taylor DJ, Tabrizi SJ, Hilton-Jones D, et al . Normal in vivo skeletal muscle oxidative metabolism in sporadic inclusion body myositis assessed by ³¹P-MRS. *Brain* 1998; 121:2119-2126.
- 220.- Fowler MD, Ryschon TW, Wysong RE, Combs CA, Balaban RS . Normalized metabolic stress for ³¹P-MR spectroscopy studies of human skeletal muscle: MVC vs. muscle volume. *J Appl Physiol* 1997; 83(3):875-883.
- 221.- Nishida M, Nishijima H, Yonezawa K, Sato I, Anzai T, Okita K, Yasuda H. Phosphorus -31 magnetic resonance spectroscopy of forearm flexor muscles in student rowers using an exercise protocol adjusted for differences in cross-sectional muscle area. *Eur J Appl Physiol* 1992; 64(6):528-533.
- 222.- Erkintalo M, Bendahan D, Mattei JP, Fabreguettes C, Vague P, Cozzone PJ, . Reduced metabolic efficiency of skeletal muscle energetics in hyperthyroid patients evidenced quantitatively by in vivo ³¹P-MRS. *Metabolism* 1998; 47:769-776.
- 223.- Yoshida T, Watari H . Metabolic consequences of repeated exercise in long distance runners. *Eur J Appl Physiol* 1993; 67:261-265.
- 224.- Hands LJ, Bore PJ, Galloway G, Morris PJ, Radda GK . Muscle metabolism in patients with peripheral vascular disease investigated by ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clinical Science* 1986; 71,283-290.
- 225.- Hands LJ, Sharif MH, Payne GS, Morris PJ, Radda GK . Muscle ischaemia in peripheral vascular disease studied by ³¹P-magnetic resonance spectroscopy. *Eur J Vasc Surg* 1990; 4(6):637-642.
- 226.- Crowther GJ, Jubrias SA, Gronka RK, Conley KE. A "functional biopsy" of muscle properties in sprinters and distance runners. *Med Sci Sports Exerc* 2002; 34(11):1719-24.
- 227.- Guthrie BM, Frostick SP, Goodman J, et al. Endurance trained and untrained skeletal muscle bioenergetics observed with magnetic resonance spectroscopy. *Can J Appl Physiol* 1996; 21(4):251-263.
- 228.- Roussel M, Bendahan D, Mattei JP, Le Fur Y, Cozzone PJ . ³¹P magnetic resonance spectroscopy study of phosphocreatine recovery kinetics in skeletal muscle: the issue of intersubject variability. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1457:18-26.
- 229.- Park JH, Brown RL, Park CR, Cohn M, Chance B . Energy metabolism of the untrained muscle of elite runners as observed by ³¹P magnetic resonance spectroscopy: Evidence suggesting a genetic endowment for endurance exercise. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85:8780-8784.

- 230.- Minotti JR, Johnson EC, Hudson Tr L, Sibbitt RR, Wise LE, Fukushima E, Icenogle V. Forearm metabolic asymmetry detected by ³¹P-NMR during submaximal exercise. *J Appl Physiol* 1989; 67(1):324-329.
- 231.- Marsh GD, Paterson DH, Thompson RT, Cheung PK, MacDermid J, Arnold JM, . Metabolic Adaptations to Endurance Training in Older Individuals. *Can J Appl Physiol* 1993; 18(4):366-378.
- 232.- Brosseau O, Mahdjoub R, Seurin MJ, Tthiriet P, Gozal D, Briguët A, . Kinetics of anaerobic metabolism in human skeletal muscle: influence of repetitive high-intensity exercise on sedentary dominant and non-dominant forearm. A ³¹P NMR study. *Biochimie* 2003; 85:885-890.
- 233.- Tartaglia MC, Chen JT, Zografos MA, Taivassalo T, Arnold DA, Argov Z, . Muscle phosphorus magnetic resonance spectroscopy oxidative indices correlate with physical activity. *Muscle Nerve* 2000; 23:175-181.
- 234.- Zanconato S, Buchthal S, Barstow TJ, Cooper B al. ³¹P-magnetic resonance spectroscopy of leg muscle metabolism during exercise in children and adults. *J Appl Physiol* 1993; 74(5):2214-2218.
- 235.- Taylor DJ, Kemp GJ, Thompson CH, Radda GK. Ageing: effects of oxidative function of skeletal muscle in vivo. *Mol Cell Biochem* 1997; 174:321-324.
- 236.- Shin-ya Kuno, Takahashi H, Fujimoto K, Akima H, Miyamaru M, Nemoto I, Itai Y. Muscle metabolism during exercise using phosphorus-31-nuclear magnetic resonance spectroscopy in adolescents. *Eur J Appl Physiol* 1995; 70:301-304.
- 237.- Petersen SR, Gaul CA, Stanton MM, Hanstock CC. Skeletal muscle metabolism during short-term, high- intensity exercise in prepubertal and pubertal girls. *J Appl Physiol* 1999; 87(6):2151-2156.
- 238.- Binzoni T., Ngo L, Janssen M, Hiltbrand E, Bianchi S, Cerretelli P, Graveron-Demilly D. Age dependence of human gastrocnemius Mg²⁺: fitting ³¹P-NMR spectra using quantum mechanics-based prior knowledge. *J Physiol Anthropol Appl Human Sci* 2001; 20(5):275-283.
- 239.- McCully KK, Fielding RA, Evans WJ, Leigh JS, Posner JD . Relationships between in vivo and in vitro measurements of metabolism in young and old human calf muscles. *J Appl Physiol* 1993; 75(2):813-819.
- 240.- McCully KK, Forciea MA, Hack LM, et al. Muscle metabolism in older subjects using ³¹P magnetic resonance spectroscopy. *Can J Physiol Pharmacol* 1991; 69:576-580.
- 241.- Schunk K, Pitton M, Duber C, Kersjes W, Schadmand-Fischer S, Thelen M, . Dynamic ³¹P MRS of the quadriceps muscle: effects of age and sex on spectroscopic results. *Invest Radiol* 1999; 34:116-125.
- 242.- Coggan AR, Abduljalil AM, Swanson C, Earle MS, Farris WL, Mendenhall LA, Robitaille PM. Muscle metabolism during exercise in young and older untrained and endurance-trained men. *J Appl Physiol* 1993; 75(5):2125-2133.
- 243.- Horska A, Fishbein KW, Fleg JL, Spencer RG. The relationship between creatine kinase kinetics and exercise intensity in human forearm is unchanged by age. *Am J Physiol* 2000; 279(2):E333-9.
- 244.- Conley KE, Jubrias SA, Esselman PC . Oxidative capacity and ageing in human muscle. *J Physiol* 2000;526.1:203-210.
- 245.- Kutsuzawa T, Shioya S, Kurita D, Haida M, Yamabayashi H . Effects of age on muscle energy metabolism and oxygenation in the forearm muscle. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33(6): 901-6.
- 246.- Mattei JP, Bendahan D, Roussel M, Lefur Y, Cozzone PJ . Gender modulates the energy cost of muscle contraction in untrained healthy subjects. A ³¹P magnetic resonance spectroscopy

analysis. FEBS lett 1999; 450:173-177.

- 247.- Kent-Braun JA, Ng AV, Doyle JW, Towse TF. Human skeletal muscle responses vary with age and gender during fatigue due to incremental isometric exercise. *J Appl Physiol* 2002; 93:1813-1823.
- 248.- Lundin S, Thoren P. Renal function and sympathetic activity during mental stress in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand* 1982; 115:125-134.
- 249.- Smith SA, Montain S, Matott RP, Zientara GP, Jolesz FA, Fielding RA, . Effects of creatine supplementation on the energy cost of muscle contraction: a 31P-MRS study. *J Appl Physiol* 1999; 87(1):116-23.
- 250.- Vandenberghe K, Van Hecke P, Van Leemputte M, Vanstapel F, Hespel P . Phosphocreatine resynthesis is not affected by creatine loading. *Med Sci Sports Exerc* 1999; 31(2):236-242.
- 251.- Gupta RK, Mittal RD, Agarwal KN, Agarwal DK. Muscular sufficiency, serum protein, enzymes and bioenergetics studies (31P MRS) in chronic malnutrition. *Acta Paediatr* 1994; 83:327-331.
- 252.- Argov Z, Chance B . Phosphorous magnetic resonance spectroscopy in nutritional research. *Ann Rev Nutr* 1991;11:449-464.
- 253.- Montain SJ, Smith SA, Mattot RP, Zientara GP, Jolesz FA, Sawka MN, . Hypohydration effects on skeletal muscle performance and metabolism: a 31P-MRS study. *J Appl Physiol* 1998; 84(6):1889-94.
- 254.- De Bisschop E, Allein S, Van der Niepen P, et al. Effect of amino acid administration on uremic muscle metabolism: a 31P spectroscopy study. *Kidney Int* 1997; 51:1182-1187.
- 255.- Taylor DJ, Styles P, Matthews PM, Arnold DA, Gadian D, Bore PJ, Radda GK. Energetics of human muscle: exercise-induced ATP depletion. *Magn Reson Med* 1986; 3(1):44-54.
- 256.- Chase P, Kushmerick MJ . Effects of pH on contraction of rabbit fast and slow skeletal muscle fibres. *Biophys J* 1998; 53:935-46.
- 257.- Miller RG, Giannini D, Milner-Brown HS, Layzer RB, et al . Effects of fatiguing exercise on high-energy phosphates, force, and EMG: evidence for three phases of recovery. *Muscle Nerve* 1987; 10:810-821.
- 258.- Moussavi RS, Carson PJ, Boska MD, et al. Non-metabolic basis of fatigue in exercising human muscle. *Neurology* 1989; 39:1222-1226.
- 259.- Beliveau L, Helal JN, Gaillard E, et al. EMG spectral shift and 31P NMR determined intracellular pH in fatigued human biceps brachii muscle. *Neurology* 1991; 41:1998-2001.
- 260.- Laurent D, Portero P, Goubel F, Rossi A. Electromyogram spectrum changes during sustained contraction related to proton and diprotonated inorganic phosphate accumulation: a 31P nuclear magnetic resonance study on human calf muscles. *Eur J Appl Physiol* 1993; 66:263-268.
- 261.- Haseler LJ, Hogan MC, Richardson RS . Skeletal muscle phosphocreatine recovery in exercise-trained humans is dependent on O₂ availability. *J Appl Physiol* 1999; 86(6):2013-2018.
- 262.- Hogan MC, Richardson S, Haseler LJ . Human muscle performance and PCr hydrolysis with varied inspired oxygen fractions: a 31P-MRS study. *J Appl Physiol* 1999; 86(4):1367-1373.
- 263.- Younkin DP, Berman P, Sladky J, Chee C, Bank WJ, Chance B, . 31P NMR studies in Duchenne muscular dystrophy: age related metabolic changes. *Neurology* 1987; 37:165-169.
- 264.- Miller RG . Role of fatigue in limiting physical activities in humans with neuromuscular diseases. *Am J Phys Med Rehabil* 2002; 81(suppl):S99-107.
- 265.- Taivassalo T, De Stefano N, Chen J, Karpati G, Arnold DL, Argov Z, . Short-term aerobic training response in chronic myopathies. *Muscle Nerve* 1999; 22:1239-1243.
- 266.- Kemp GJ, Hands LJ, Ramaswami G, Taylor AW, Nicolides A, Amatos A, Radda GK. Calf

muscle mitochondrial and glycogenolytic ATP synthesis in patients with claudication due to peripheral vascular disease analysed using ³¹P magnetic resonance spectroscopy. Clin Sci (Lond) 1995; 89:581-590.

- 267.- Thompson CH, Davies RJO, Kemp GJ, Taylor DJ, Radda GK, Rajagopalan B, . Skeletal muscle metabolism during exercise and recovery in patients with respiratory failure. Thorax 1993; 48:486-490.
- 268.- Levy P, Wuyam B, Pepin JL, Reutenauer H, Payen JF . Skeletal muscle abnormalities in chronic obstructive lung disease with respiratory insufficiency. Value of ³¹P magnetic resonance spectroscopy. Rev Mal Respir 1997; 14(3):183-91.
- 269.- Payen JF, Wuyam B, Levy P, Reutenauer H, Stieglitz P, Paramelle B, Le Bas JF. Muscular metabolism during oxygen supplementation in patients with chronic hypoxemia. Am Rev Respir Dis 1993; 147:592-598.
- 270.- Sala E, Roca J, Marrades RM, Alonso J, et al. . Effects of endurance training on skeletal muscle bioenergetics in chronic obstructive pulmonary disease. Am J respir crit care med 1999; 159:1726-1734.
- 271.- Kaminsky P, Melone M, Brunotte F, Escanye JM, Robin B, Floquet J, Duc ML. Spectroscopie en RMN du Phosphore: Son intérêt dans le diagnostic des myopathies métaboliques. Une observation de maladie de Mac Ardle. Presse Med 1990;19(23):1091-1093.
- 272.- Kaminsky P, Escanye JM, Klein M, Robin-Lherbier B, Walker P al . Spectroscopy of phosphorus in nuclear magnetic resonance. General review of clinical applications to the study of human skeletal muscle. Rev Med Interne 1991; 12:128-138.
- 273.- Kaminsky P, Robin-Lherbier B, Fener P, Jouannay P, Walker P, Klein M, Escanyé JM. Anomalies de la bioénergétique musculaire dans une maladie de steinert. Rev Neurol (Paris) ; .
- 274.- Taylor DJ, Bore PJ, Styles P, Gadian DG, Radda GK . Bioenergetics of Intact Human Muscle A ³¹P Nuclear Magnetic Resonance Study. Mol Biol Med 1983; 1:77-94.
- 275.- Veech RL, Lawson JWR, Cornell NW, Krebs HA. Cytosolic phosphorylation potential. J Biol Chem 1979;254:6538-47.
- 276.- Marsh GD, Paterson DH, Thompson CH, Driedger AA. Coincident thresholds in intracellular phosphorylation potential and pH during progressive exercise. J Appl Physiol 1991; 71(3):1076-1081.
- 277.- Iyengar MR, Coleman DW, Butler TM . Phosphocreatine, a High-energy Phosphate in Muscle, Spontaneously Forms Phosphocreatine and Creatinine Under Physiological Conditions. J Biol Chem 1985; 260(12):7562-7567.
- 278.- General Principles of Exercise Prescription. In ACSM'S Guidelines for Exercise Testing and Prescription. American college of sports medicine 6° ed. Lippincott Williams and Wilkins Baltimore. 2000; .
- 279.- Price TB, Kamen G, Damon BM, Knight CA, Applegate B, Gore JC, Eward K. Comparison of MRI with EMG to study muscle activity associated with dynamic plantar flexion. Magn reson imaging 2003; 21:853-861.
- 280.- Vandenborne K, Walter G, Ploutz-Snyder L, Dudley G, Elliott MA, De Meirleir K, . Relationship between muscle T2*relaxation properties and metabolic state: a combined localized ³¹P-spectroscopy and ¹H-imaging study. 2000; 82:76-82.
- 281.- Haseler LJ, Richardson RS, Videen JS, Hogan MC. Phosphocreatine hydrolysis during submaximal exercise. J Appl Physiol 1998; 85(4): 1457-1463.
- 282.- Terjung RL, Mathien GM, Erney TP, Ogilvie RW. Peripheral Adaptations to Low Blood Flow in Muscle During Exercise. Am J Cardiol 1988; 62:15E-19E.
- 283.- Ugurbil K, Petein M, Maidan R, Michurski S, From AH . Measurement of an individual rate

constant in the presence of multiple exchanges: application to myocardial creatine kinase reaction. *Biochemistry* 1986; 25:100-107.

- 284.- Isabel M^o Alguacil Diego . Estudio de la modificaciones inmunológicas producidas por la actividad física. Tesis Doctoral. UCM. 2004; .
- 285.- Fitts RH . Cellular mechanisms of muscle fatigue. *Physiol Rev* 1994; 74:49-94.
- 286.- Westerblad H, Allen DG, Bruton JD, Andrade FH, Lannergren J . Mechanisms underlying the reduction of isometric force in skeletal muscle fatigue. *Acta Physiol Scand* 1998; 162:253-260.
- 287.- Allen DG, Westerblad H . Role of phosphate and calcium stores in muscle fatigue. *J Physiol (london)* 2001;536:657-665.
- 288.- Mancini DM, Coyle E, Coggan A, Beltz J, Ferraro N, Montain S, Wilson JR. Contribution of intrinsic skeletal muscle changes to ³¹P NMR skeletal muscle metabolic abnormalities in patients with chronic heart failure. *Circulation* 1989;80(5):1338-1346.
- 289.- Weiner MW, Moussavi RS, Baker AJ, Boska MD, Miller RG . Constant relationships between force, phosphate concentration, and pH in muscles with differential fatigability. *Neurology* 1990; 40(12):1888-1893.
- 290.- Chin ER, Allen DG . Effects of reduced muscle glycogen concentration on force, Ca²⁺ release and contractile protein function in intact mouse skeletal muscle. *J Physiol* 1997; 498:17-29.
- 291.- Rossiter HB, Ward DS, Kowalchuk JM, Howe FA, Griffiths JR, Whipp B, . Dynamic asymmetry of phosphocreatine concentration and O₂ uptake between on- and off-transients of moderate- and high- intensity exercise in humans. *J Physiol* 2002; 541:991-1002.
- 292.- Yoshida T, Watari H . Exercise- induced splitting of the inorganic phosphate peak: investigation by time resolved ³¹P- nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Eur J Appl Physiol* 1994; 69:465-473.
- 293.- Yoshida T, Watari H . Effect of circulatory occlusion on human muscle metabolite during exercise and recovery. *Eur J Appl Physiol* 1996; 75:200-205.
- 294.- McCully KK., Kakihiro H, Vanderborne K, Kent J. Noninvasive measurements of activity-induced changes in muscle metabolism. *J Biomechanics* 1991; 24 Suppl 1,153-161.
- 295.- Brown RL, Park JH, Park CR, McCully KK, Chance B . NMR observed phosphate metabolism during exercise of untrained muscle in athletic and non-athletic subjects. *Federation Proc (Abs)* 1987; 46:2027-28.
- 296.- Eleff SN, Kennaway NG, Buist NR, Darley-USmar VM, Capaldi RA, Bank WJ, Chance B. ³¹P-NMR study of improvement on oxidative phosphorylation by vitamins K₃ and C in a patient with a defect in electron transport at complex III in skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81:3529-3533.
- 297.- Miller RG, Carson PJ, Robabe RS, Moussavi S, Boska MD . The use of magnetic resonance spectroscopy to evaluate muscular fatigue and human muscle disease. *Appl Radiol* 1989; March:33-38.
- 298.- Zatina MA, Berkowitz HD, Gross GM, Maris Jm, Chance B . ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy: noninvasive biochemical analysis of the ischemic extremity. *J Vasc Surg* 1986; 3:411-420.
- 299.- Knuttgen HG, Sahlin B . Muscle metabolites and oxygen uptake in short-term submaximal exercise in man. *J Appl Physiol* 1972; 32:690-694.
- 300.- Mattei JP, Kozak-Ribbens G, Roussel M, Le Fur Y, Cozzone PJ, Bendahan D, . New parameters reducing the interindividual variability of metabolic changes during muscle contraction in humans. A (³¹P) MRS study with physiological and clinical implications. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1554:129-36.

- 301.- Wilson JR, Fink L, Maris J, Ferraro N, Power-Vanwart J, Eleff S, Chance B. Evaluation of energy metabolism in skeletal muscle of patients with heart failure with gated phosphorus-31 nuclear magnetic resonance. *Circulation* 1985; 71(1):57-62.
- 302.- Payen JF, Wuyam B, Reutenauer H, Laurent D, Levy P al . Impairment of muscular metabolism in chronic respiratory failure. A human 31P MRS study. *NMR Biomed* 1991; 4(1):41-45.
- 303.- Systrom DM, Kanerek DJ, Kohler SJ, Kazemi H. 31P nuclear magnetic resonance spectroscopy study of the anaerobic threshold in humans. *J Appl Physiol* 1990; 68(5):2060-2066.
- 304.- Kemp GJ, Taylor AW, Styles P, Radda GK. The Production, Buffering and Efflux of Protons in Human Skeletal Muscle during Exercise and Recovery. *NMR Biomed* 1993; 6:73-83.
- 305.- Schocke MF, Esterhammer R, Arnold W, Kammerlander Ch, Burtscher M, Fraedrich G, Jaschke WR. High-energy phosphate metabolism during two bouts of progressive calf exercise in humans measured by phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy. *Eur J App Physiol* 2005; 93:469-479.
- 306.- Cerretelli P, Binzoni T . The Contribution of NMR, NIRS and their Combination to the Functional Assessment of Human Muscle. *Int J Sports Med* 1997; 18(Suppl. 4):S270-S279.
- 307.- Hochachka PW, Matheson GO . Regulating ATP turnover rates over broad dynamic work ranges in skeletal muscles. *J Appl Physiol* 1992; 73:1697-1703.
- 308.- Menard MR, Penn AM, Lee JWK, Dusik LA, Hall LD . Relative Metabolic Efficiency of Concentric and Excentric Exercise Determined by 31P Magnetic Resonance Spectroscopy. *Arch Phys Med Rehabil* 1991; 72:976-83.
- 309.- Miller RG, Boska MD, Moussavi RS, Carson PJ, Weiner MW . 31P Nuclear Magnetic Resonance Studies of High Energy Phosphates and pH in Human Muscle Fatigue. Comparison of Aerobic and Anaerobic Exercise. *Neurology* 1988;81:1190-1196.
- 310.- Gollnick PD, Hermansen L . Biochemical adaptations to exercise: anaerobic metabolism. *Exerc Sports Sci Rev* 1973; 1:1-43.
- 311.- Rossiter HB, Howe FA, Ward DS, Kowalchuk JM, Griffiths JR, Whipp B, . Intersample fluctuations in phosphocreatine concentration determined by 31P-magnetic resonance spectroscopy and parameter estimation of metabolic exercise in humans. *J Physiol* 2000; 528:359-369.
- 312.- Davies KJA, Packer L, Brooks GA. Biochemical adaptation of mitochondria, muscle, and whole-animal respiration to endurance training. *Arch Biochem Biophys* 1981; 209(2):539-554.
- 313.- Ravalec X, Te Tallec N, Carré F, Certaines J, Le Rumeur E . Improvement of muscular oxidative capacity by training is associated with slight acidosis and ATP depletion in exercising muscles. *Muscle Nerve* 1996; 19:355-361.
- 314.- Kushmerick MJ, Meyer RA . Chemical changes in rat leg muscle by phosphorus nuclear magnetic resonance. *Am J Physiol* 1985; 248(Cell Physiol.17):C542-C549.
- 315.- Constable SH, Favier R, McLane JA, Fell RD, Chen M, Hollosky JO, . Energy metabolism in contracting rat skeletal muscle :adaptation to exercise training. *Am J Physiol* 1987; 253:(22):C316-C322.
- 316.- Baldwin KM, Klinkerfuss GH, Terjung RL, Mole PA, Hollosky JO . Respiratory capacity of white, red and intermediate muscle: adaptive response to exercise. *Am J Physiol* 1972; 222(2)373-378.
- 317.- Dudley GA, Abraham WM, Terjung RL . Influence of exercise intensity and duration on biochemical adaptations in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1982; 53:844-850.
- 318.- Holloszy JO . Biochemical Adaptations in Muscle: Effects of exercise mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *J Biol Chem* 1967; 242(9):2278-2282.

- 319.- Kuno S, Akisada M, Mitsumori F . Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance study on the effects of endurance training in rat skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 1992; 65(2):197-201.
- 320.- Clark BJ, Acker MA, McCully K, Subramanian HV, Hammond RL, Salmons S, Chance B. In vivo ³¹P-NMR spectroscopy of chronically stimulated canine skeletal muscle. *Am J Physiol* 1988; 254(Cell Physiol. 23):C258-C266.
- 321.- Minotti JR, Johnson EC, Hudson TL, Zuroske G, Murata G, Fukushima E, Cagle TG. Skeletal muscle response to exercise training in congestive heart failure. *J Clin Invest* 1990; 86(3):751-758.
- 322.- Stratton JR, Dunn JF, Adamopoulos S, Kemp GJ, Coats AJ, Rajagopalan B, . Training partially reverses skeletal muscle metabolic abnormalities during exercise in heart failure. *J Appl Physiol* 1994; 76(4):1575-1582.
- 323.- Mc Cully K, Clark A, Kent J, Wilson DF, Chance B . Biochemical adaptations to training: implications for resisting muscle fatigue. *Can J Physiol Pharmacol* 1991; 69:274-278.
- 324.- Appell HJ . Muscular atrophy following immobilisation. *Sports Med* 1990; 10:42-58.
- 325.- Chati Z, Zannad F, Jeandel C, Lherbier B, Escanye JM, Robert J, Aliot E. Physical deconditioning may be a mechanism for the skeletal muscle energy phosphate metabolism abnormalities in chronic heart failure. *Am Heart J* 1996; 131:560-566.
- 326.- LeBlanc A, Rowe R, Evans H, West S, Shackelford L, Schneider V, . Muscle atrophy during long duration bed rest. *Int JSports Med* 1997; 18(suppl 4):S283-S285.
- 327.- Vandenborne K, Elliott MA, Walter GA, Abdus S, Okereke E, Shaffer M, Tahernia D. Longitudinal study of skeletal muscle adaptations during immobilization and rehabilitation. *Muscle Nerve* 1998; 21:1006-1012.
- 328.- Binzoni T, Cerretelli P . Bioenergetic approach to transfer function of human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1994;77(4):1784-1789.
- 329.- Gariod L, Binzoni T, Ferretti G, Le Bas JF, Reutenauer H, Cerretelli P. Standardisation of ³¹phosphorus-nuclear magnetic resonance spectroscopy determinations of high energy phosphates in humans. *Eur J Appl Physiol* 1994;68:107-110.
- 330.- Yoshida T, Watari H . ³¹P-Nuclear Magnetic resonance spectroscopy study of the time course of energy metabolism during exercise and recovery. *Eur J Appl Physiol* 1993; 66:494-499.
- 331.- Le Rumeur E, Le Moyec L, Toulouse P, Le Bars R, de Certaines JD . Muscle fatigue unrelated to phosphocreatine and pH: an "in vivo" ³¹-P NMR spectroscopy study. *Muscle Nerve* 1990; 13(5):438-444.
- 332.- Nevill A M, Jones DA, McInyre D, Bogdanis GC, Nevill ME . A model for phosphocreatine resynthesis. *J Appl Physiol* 1997; 82(1):329-335.
- 333.- McCutcheon LJ, Byrd SK, Hodgson DR. Ultrastructural changes in skeletal muscle after fatiguing exercise. *J Appl Physiol* 1992; 72(3):1111-1117.
- 334.- Sahlin K, Harris RC, Hultman E . Resynthesis of creatine phosphate in human muscle after exercise in relation to intramuscular pH and availability of oxygen. *Scand J Clin Lab Invest* 1979; 39:551-558.
- 335.- Arnold DL, Matthews PM, Radda GK . Metabolic recovery after exercise and the assessment of mitochondrial function in vivo in human skeletal muscle by means of ³¹P NMR. *Magn Reson Med* 1984; 1:307-315.
- 336.- Sahlin B, Harris RC, Hultman E . Creatine kinase equilibrium and lactate content compared with muscle pH in tissue samples obtained after isometric exercise. *Biochem J* 1975; 152(2):173-80.
- 337.- Iotti S, Funicello R, Zaniol P, Barbioli B. The rate of phosphate transport during recovery from muscular exercise depends on cytosolic [H⁺]: a ³¹P-NMR spectroscopy study in humans.

Biochem Biophys Res Commun 1991; 178:871-877.

- 338.- Jansson E, Dudley GA, Norman B, Tesch PA. Relationship of recovery from intensive exercise to the oxidative potential of skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 1990; 139:147-152.
- 339.- Argov Z, Bank WJ, Maris J, Peterson P, Chance B . Bioenergetic heterogeneity of human mitochondrial myopathies: phosphorus magnetic resonance spectroscopy study. *Neurology* 1987; 37:257-262.
- 340.- Mancini DM, Walter G, Reichel N, et al. Contribution of skeletal muscle atrophy to exercise intolerance and altered muscle metabolism in heart failure. *Circulation* 1992; 85:1364-1373.
- 341.- McCully KK, Iotti S, Kendrick K, Wang Z, Posner JD, Leigh J, Chance B. Simultaneous in vivo measurements of HbO₂ saturation and PCr kinetics after exercise in normal humans. *J Appl Physiol* 1994; 77(1):5-10.
- 342.- Laurent M, Thiaudière E, Dolez Ph, Gerville-Réache L. Parameter estimation in modeling phosphocreatine recovery in human skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 2004; 91:419-424.
- 343.- Iotti S, Gottardi G, Clementi V, Barbiroli B. The mono-exponential pattern of phosphocreatine recovery after muscle exercise is a particular case of a more complex behaviour. *Biochim Biophys Acta* 2004; 131-139.
- 344.- Harris RC, Edwards HT, Hultman E . The time course of phosphorylcreatine resynthesis during recovery of the quadriceps muscle in man. *Pflugers Arch* 1976; 367 (2):137-42.
- 345.- Bogdanis GC, Nevill ME, Boobis LH, Lakomy HKA, Nevill AM . Recovery of power output and muscle metabolites following 30s of maximal sprint cycling in man. *J Physiol (London)* 1995; 482(2):467-480.
- 346.- Dawson MJ . The relation between muscle contraction and metabolism: studies by ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Adv Exp Med Biol* 1988; 226:433-448.
- 347.- Cooke SR, Petersen SR, Quinney HA . The influence of maximal aerobic power on recovery of skeletal muscle following anaerobic exercise. *Eur J Appl Physiol* 1997; 75: 512- 519.
- 348.- Jubrias SA, Crowther GJ, Shankland EG, Gronka RK, Conley KE . Acidosis inhibits oxidative phosphorylation in contracting human skeletal muscle in vivo. *J Physiol* 2003; 553(Pt 2):589-599.
- 349.- Newcomer BR, Boska MD, Hetherington HP . Non-Pi buffer and initial phosphocreatine breakdown and resynthesis kinetics of human gastrocnemius/soleus muscle groups using 0.5 s time resolved ³¹P-MRS at 4.1T. *NMR Biomed* ; 12:545-51.
- 350.- McCully KK, Vandenborne K, DeMeirleir K, Posner JD, Leigh JS . Muscle metabolism in track athletes, using ³¹P magnetic resonance spectroscopy. 1992; 70(10):1353-9.
- 351.- Riemens SC, van Tol A, Scheek LM, Dullaart RP. Plasma cholesterol ester transfer and hepatic lipase activity are related to high-density lipoprotein cholesterol in association with insulin resistance in type 2 diabetic and non-diabetic subjects. *Sports Med* 2001; 31(1):1-11.

APENDICES

APENDICE I

FECHA:	NOMBRE:	
SEXO:		
EDAD:	ENFERMEDAD PULMONAR	SISTEMA NERVIOSO
TALLA:	Disnea al esfuerzo	Antecedentes
PESO:	Tos	Patologías degenerativas (ELA)
ESPESOR TRICIPITAL:	Expectoración crónica	Neuropatías periféricas
PLIEGUE:	Asma	Síndrome compresión
ACTIVIDAD FISICA:	Exposición profesional	Miopatías
< 3 h/s	Otras	APARATO LOCOMOTOR
3-5 h/s	CARDIOVASCULAR	Enf. reumáticas
> 5 h/s	Cardiopatía	Dispositivos metálicos osteosíntesis
TABACO:	Trastornos ritmo	Patologías:
No fumador	Hipertensión arterial	Ósea
5-10 cg/d	Vasculopatía periférica EEII	Muscular-tendinosa
11-20 cg/d	Arterial	Articular
> 20 cg/d	Venoso	Ligamentosa
Exfumador	Marcapasos	ENDOCRINOS
ALCOHOL:	Válvulas protésicas metálicas	Tiroides
No bebe	DIGESTIVO	Diabetes
Poco 2Vvino	Regimen nutricional	glucogenosis
Mucho	Vegetariano	TOLERANCIA AL ESFUERZO
MEDICACIÓN:		
Ansiofítico	Alteraciones hepáticas	ECG
Barbitúrico	Trastornos de malabsorción	
Benzodiazepan	ENF. RENAL	
Otros	HEMATOLÓGICOS	

<u>DATOS EJERCICIO</u>			
T. ARTERIAL: FREC. CARDIACA:	Rep	Final EJ. Progresivo:	Final EJ. Constante:
CAUSA DE PARADA DEL EJERCICIO Fatiga Incomodidad postura dolor Falta de colaboración Otros		EJ. Progresivo:	EJ. Constante:
DIFICULTAD (1 a 10)		EJ. Progresivo:	EJ. Constante:
INCIDENCIAS:			
Consentimiento informado.			

APENDICE II

Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Nancy

HÔPITAUX DE BRABOIS

Rue du Morvan - 54511 VANDŒUVRE CEDEX
Tél. 83.55.81.20 - 83.59.60.61 - Télex 960.561

HÔPITAL D'ADULTES PAVILLON P.-L. DROUET

Service des Maladies Respiratoires
et Réanimation Respiratoire

Professeur J.-M. POLU
Chef de Service

Professeur N. DELORME
Réanimation

Laboratoire de Physiologie
de l'exercice Musculaire

Docteur M. GIMENEZ
Poste 40.50

NOM :

POIDS :

DATE :

PRENOM :

TAILLE :

SERVICE :

AGE :

EPREUVE D'EXERCICE MUSCULAIRE :

TOURS/MIN :

W/3 mn	REPOS						REPOS	
VE l/mn							PH	
VCO ₂ ml/mn							PCO ₂	
VO ₂ ml/mn							PO ₂	
VO ₂ ml/mn/kg							HCO ₃	
QR							SAO ₂	
ERCO ₂							EFFORT	
ERO ₂							PH	
f resp./mn							PCO ₂	
VT ml							PO ₂	
F.C. puls./mn							HCO ₃	
T.A. mm Hg							SAO ₂	

APENDICE III

CODIGO:		HORAS/S	METS		
A.V.D.			AVD / AFD	TIPO	
CASA:				1-	3-
TRABAJO:				2-	4-
ACT. FISICO DEPORTIVAS					
TIPO:				NIVEL	
DEPORTE:				1-	
ENTRENAMIENTO:				2-	
				3-	
<u>TIPO ACTIVIDAD</u>		<u>NIVEL ACTIVIDAD TOTAL</u>			
1.- AVD		1.- <3 h/s AVD + OCASIONAL < 4 METS			
2.- AVD + AFD OCASIONAL PIERNAS (-)		2.- 3 – 6 h/s AVD + ACTV REGULAR			
3.- AVD + AFD REGULAR PIERNAS (-)		3.- > 6 h/s AVD + ACTV DEPORT > 3 h/s			
4.- AVD + AFD PIERNAS (+)					